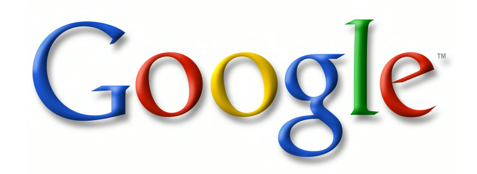
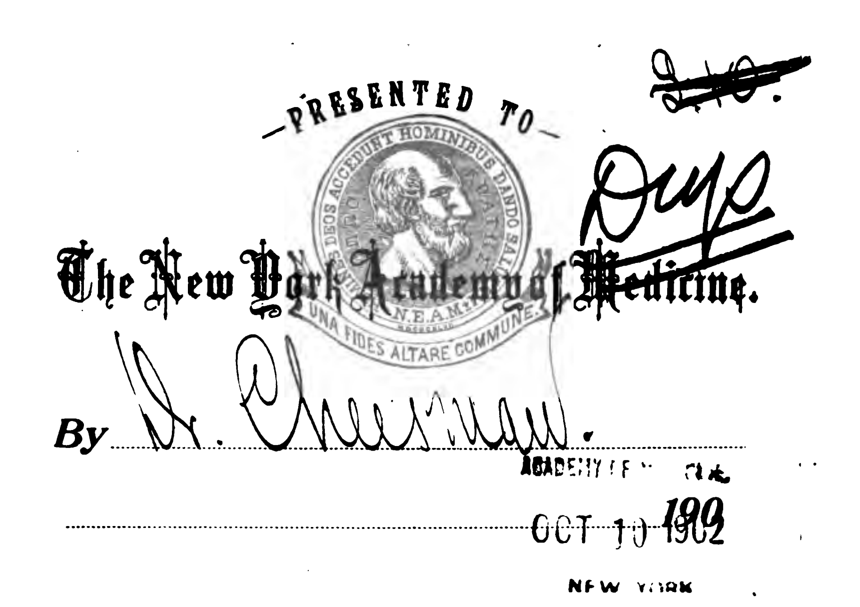



LANE
MEDICAL
LIBRARY
SEAL OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY
SEMPER VIRENS
1885















# GRUNDRISS

DER

# BAKTERIOLOGIE

FÜR

## AERZTE UND STUDIERENDE

VON

DR. S. L. SCHENK
A. Ö. PROFESSOR AN DER K. K. UNIVERSITÄT WIEN

MIT 99 THEILS FARBIGEN HOLZSCHNITTEN




WIEN UND LEIPZIG
URBAN & SCHWARZENBERG
1893

# *Vorrede.*

---

*Das vorliegende Buch soll dem Studierenden und dem Arzte ein Führer durch die Bakteriologie sein. Es wurden deshalb die Methoden der Untersuchung möglichst genau angeführt und die elementare Technik besonders berücksichtigt. Der Verfasser hielt es für zweckmässig, die Organismen nach den Orten anzuführen, an denen man ihnen begegnet; dadurch war es möglich, an den entsprechenden Stellen auf die Untersuchungsmethodik genau einzugehen. Die pathogenen Mikroorganismen wurden besonders berücksichtigt. Den chemischen Bedingungen des Bakterienlebens und der Biologie der Mikroorganismen musste umsomehr Rechnung getragen werden, als die Ereignisse der letzten Zeit eine Erweiterung unseres therapeutischen Vermögens von dieser Seite her erhoffen lassen.*

*Von den wichtigsten Bakterien wurden Abbildungen angefertigt, welche ihre Wachsthumserscheinungen und ihre Formen darstellen und dem Arzte typische Bilder einprägen sollen, an die er sich bei seinen eigenen Untersuchungen zu halten vermag.*

*Im Texte suchte der Verfasser die verschiedensten Schulen zu berücksichtigen; er zog deshalb andere Lehrwerke und bakteriologische Schriften heran; den Zwecken eines Lehrbuches entsprechend, blieben die Literaturangaben fort.*

*Die elegante Ausstattung des Buches macht es dem Unterzeichneten zur angenehmen Pflicht, der Verlagshandlung öffentlich seinen Dank auszusprechen.*

*Möge dieser Leitfaden dazu beitragen, das Interesse der Aerzte und Studierenden für die Bakteriologie wachzuhalten und zu fördern.*

**S. L. Schenk.**

# Inhaltsverzeichnis.

## Allgemeine Morphologie und Biologie der Mikroorganismen.

# Allgemeine Morphologie und Biologie der Mikroorganismen.

Innerhalb und ausserhalb des menschlichen Körpers finden sich zahllose, mikroskopisch kleine Organismen (Mikroorganismen), die sich auf der Oberfläche des Körpers anzusiedeln und auf verschiedenen Wegen in ihn einzudringen vermögen. Sie gehören theils dem Pflanzen-, theils dem Thierreiche an und sind darauf angewiesen, sich auf thierischen oder pflanzlichen Körpern zu entwickeln. Je nachdem sie nur auf todter Substanz oder auf lebender Materie zu gedeihen vermögen, unterscheiden wir Saprophyten und Parasiten. Die Parasiten werden in obligate und facultative Parasiten eingetheilt. Die obligaten oder strengen Parasiten gedeihen ausschliesslich im lebenden Körper und gehen ausserhalb desselben zu Grunde; die facultativen Parasiten vermögen sich den veränderten Lebensbedingungen anzupassen und sowohl innerhalb als ausserhalb des Körpers fortzukommen. Mit Rücksicht auf das Verhältnis zum menschlichen oder thierischen Körper spricht man von ektogenen Organismen, die ausserhalb des Körpers auftreten, von endogenen Organismen, die im Körper leben, und von ambigenen, die sowohl innerhalb als auch ausserhalb des Körpers leben können. Die meisten von ihnen vermögen ohne Sauerstoff nicht zu leben; man bezeichnet sie als Aërobien. Eine grosse Zahl derselben kann aber auch bei Sauerstoffabschluss gedeihen (facultative Anaërobien); jene Mikroorganismen, deren Wachsthum bei Gegenwart von Sauerstoff nicht vor sich gehen kann, werden als obligate Anaërobien bezeichnet.

Die Mikroorganismen gehören verschiedenen Classen an, den Bakterien, den Schimmelpilzen, den Sprosspilzen, den Algen und den Protozoen.

## Bakterien.

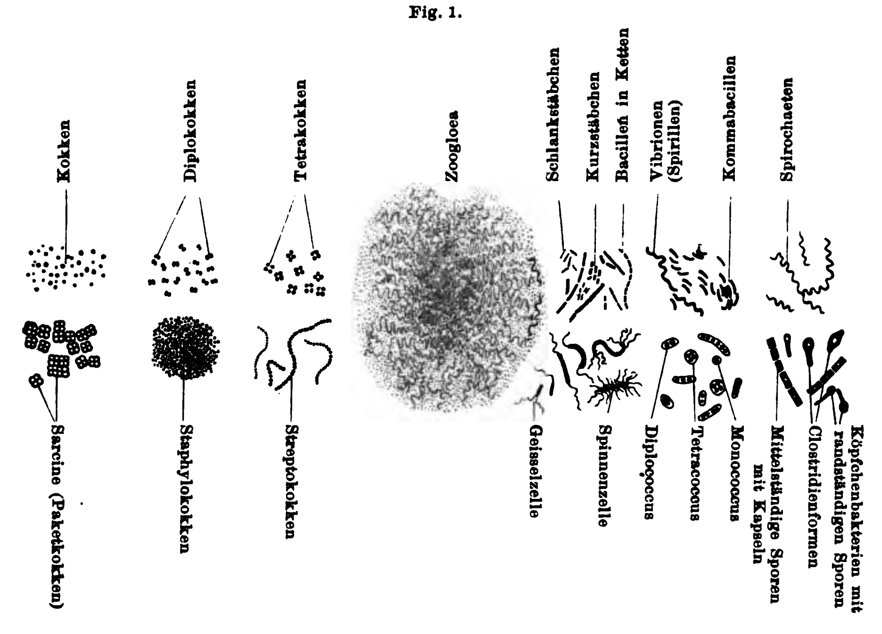
Die Bakterien (Spaltpilze, Schizomyceten) sind farblose, glashelle, durchsichtige Zellen, die eine Hülle und einen protoplasmatischen Inhalt, aber keinen Kern besitzen. Die Länge der Bakterien beträgt im Allgemeinen einige Tausendstel eines Millimeters,

ihre Dicke einige Zehntausendstel eines Millimeters. Das Innere der Bakterienzellen erscheint meist homogen, zuweilen mit ölartigen Körnchen. Nach der Form unterscheidet man Kokken, Bacillen und Spirillen.

Die Kokken sind runde Formen, die entweder einzeln oder in Verbänden auftreten. Die einzelnen Kokken heissen Monokokken, die in Haufen geordneten Staphylokokken; nach der Zahl der sich verbindenden Elemente unterscheidet man Diplokokken und Tetrakokken; sind je acht so geordnet, dass ihre Form an einen Warenballen erinnert, so nennt man sie Sarcine; sind sie in Ketten angereiht, so bezeichnet man sie als Streptokokken.

Die Bacillen sind gerade Stäbchen; der kleinste von den bisher entdeckten ist der Influenzabacillus. Die Enden sind bald

Fig. 1.




*Formen der Bakterien (nach Baumgarten). Circa 700fache Vergrösserung.*

scharf, bald abgerundet, die Stäbchen selbst bald schlank, bald plump und dick, bald in der Mitte aufgetrieben u. s. w.

Die Spirillen sind gewundene Stäbchen; sie werden in die Kommastäbchen (Vibrionen), in die Spirillen im engeren Sinne und in die Spirochaeten unterschieden. Die Vibrionen pflegen Zellverbände zu bilden, welche den Spirillen sehr ähnlich sind; die Spirochaeten zeichnen sich durch ihre Biegsamkeit aus (Fig. 1).

## Beweglichkeit der Bakterien.

Eine grosse Zahl von Bakterien ist beweglich; die Beweglichkeit ist veranlasst durch Cilien (Geisselfäden), welche ge-

wundene Fortsätze darstellen, die bald einzeln, bald zu mehreren vorhanden sind und fortwährende Schwingungen ausführen.

Von der Beweglichkeit sind die oscillierenden Bewegungen, die auch als Eigenbewegungen aufzufassen sind, und jene Bewegung zu unterscheiden, die auch an leblosen, in einer Flüssigkeit suspendierten Theilchen vorkommt und als die *Brown*'sche Molecularbewegung bekannt ist.

## Kapseln der Bakterien.

Durch die Aufquellung der Membran entstehen die Kapseln, welche am besten bei jenen Mikroorganismen sichtbar sind, die in Zellverbänden auftreten, den Diplokokken, Streptokokken, Tetrakokken und der Sarcine; auch verschiedene Bacillen, wie der Kapselbacillus *(Pfeiffer)* oder der Bacillus capsulatus mucosus *(Fasching)*, sind mit Kapseln versehen. Durch die Vereinigung der Zellkapseln entstehen Zellverbände, die man als Zoogloea und, wenn sie sich auf der Oberfläche von Flüssigkeiten ausbreiten, als Kahmhaut bezeichnet; mitunter dient die Kahmhaut zur Unterscheidung von Mikroorganismen, die einander sehr ähnlich sind; so bilden die Cholerabacillen eine Kahmhaut, die *Finkler-Prior*'schen Bacillen nicht.

## Vermehrung der Bakterien.

Die Vermehrung der Bakterien erfolgt durch Spaltung, daher ihr Name „Spaltpilze". Hat der einzelne Organismus seine normale Grösse erreicht, so tritt in der Mitte eine helle Linie auf, welche die Theilungsmarke vorstellt; die so gebildeten zwei Individuen reissen sich von einander los und bilden wieder selbstständige Organismen.

Wenn die Tochterzellen sich nicht trennen, so entstehen die Zellverbände, in denen die Zellen zu Fäden, zu Trauben (Staphylokokken), zu Ketten (Streptokokken) u. s. w. verbunden bleiben; die Zellverbände der Vibrionen werden häufig schlechtweg als Spirillen bezeichnet. Erfolgt die Theilung der Kokken nach einer Richtung des Raumes, so entstehen dadurch die Diplokokken; bei einer Theilung nach zwei Richtungen resultieren die Tafelkokken (Merismopedia, Tetrakokken), bei einer Theilung nach drei Richtungen die Paketkokken (Sarcine).

Eine zweite Art der Fortpflanzung ist die Vermehrung durch Sporenbildung; die Sporen sind durch eine ganz besondere Widerstandsfähigkeit gegenüber Temperatureinflüssen oder chemischen Einwirkungen ausgezeichnet und werden deshalb auch Dauerformen genannt. Die Lage der Sporen in der Bakterienzelle ist meist mittelständig, bei einigen Arten endständig. Mitunter erscheint die Mitte der Zelle durch die Sporen bauchig aufgetrieben, so dass die Zelle spindelförmig wird. Diese Form wird als Clostridium bezeichnet (siehe Fig. 1).

Wenn die Sporen endständig sind, wie beim Tetanusbacillus, haben die Zellen Aehnlichkeit mit einem Trommelschlägel (Köpfchenbakterien).

Die Sporenbildung im Inneren der Mutterzelle wird als eigentliche oder endogene bezeichnet; arthrogen wird die Sporenbildung genannt, wenn sich einzelne Theile von der Zelle ablösen und allmälig zu selbstständigen Individuen auswachsen (Arthrosporen).

Die Bakterien bedürfen zu ihrem Gedeihen einer gewissen Menge von Feuchtigkeit; beim Austrocknen gehen viele in kurzer Zeit zugrunde.

## Stoffwechselproducte der Bakterien.

Neben den morphologischen Eigenschaften sind die biologischen Eigenschaften der Bakterien von besonderer Wichtigkeit.

Eine grosse Anzahl von Mikroorganismen hat die Eigenschaft, Farbstoffe, aber nicht Chlorophyll, zu erzeugen; die Bakterien selbst sind farblos und durchsichtig, aber als Stoffwechselproduct, zumeist unter dem Einflusse des Lichtes, wird Pigment gebildet.

Viele Bakterien scheiden Riechstoffe ab, so erzeugen einige anaërob lebende Mikroorganismen sehr widerwärtige Fäulnisgase (Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Scatol u. s. w.). Der Bacillus der Cholera asiatica erzeugt einen angenehm aromatischen Geruch. der Bacillus prodigiosus einen Geruch nach Trimethylamin.

Die Mikroorganismen haben auch die Eigenschaft, durch ihre Stoffwechselproducte den Nährboden zu verändern; die Eiweisskörper werden von einigen Bakterien peptonisiert und die Gelatine verflüssigt; vielen Bakterien kommt die Fähigkeit zu, organische Substanzen in ihre einfachsten Bestandtheile zu zerlegen; einige Bakterien haben aber eine nitrificierende Wirkung, indem sie das Ammoniak in salpetrige Säure und Salpetersäure überführen; einzelne Mikroben zerlegen eiweisshaltige Körper in ihre chemischen Verbindungen (Fäulnis); andere Bakterien veranlassen Gährungen; einige wenige haben die Eigenschaft, in Folge der molecularen Thätigkeit des Protoplasmas im Dunklen zu leuchten (Phosphorescenz).

## Einfluss der Bakterien auf die Gewebe.

Der Einfluss der Bakterien auf die Gewebe des menschlichen und thierischen Körpers hängt sowohl von der Beschaffenheit der Bakterien als von den Eigenschaften der Gewebe ab. Die pathogenen Bakterien wirken nicht auf alle Thiere in gleicher Weise; jene Thiere, die für gewisse Bakterien unempfänglich sind, werden als immun gegen die betreffenden Organismen bezeichnet; doch können auch Thiere, die gewöhnlich gegen einen pathogenen Mikroorganismus immun sind, unter geänderten Umständen ihre Immunität verlieren; so wird der gewöhnlich gegen den Milzbrand immune Frosch bei höherer Temperatur dafür empfänglich.

Durch verschiedene Factoren kann die Giftigkeit (Virulenz) pathogener Bakterien abgeschwächt werden; dazu gehört der Aufenthalt im Körper immuner Thiere, Erhöhung des Luftdruckes, Einwirkung höherer Wärmegrade, Einfluss des Sonnenlichtes etc. Diese Abschwächung wird auf eine Aenderung der Stoffwechselproducte zurückgeführt.

## Toxine, Toxalbumine und Ptomaine.

Die in den Körper eindringenden Bakterien erzeugen durch ihren Stoffwechsel Substanzen, die zum Theile heftige toxische Wirkungen ausüben und in die Toxine und Ptomaine (Leichenalkaloide) unterschieden werden; ihnen schreibt man die krankheitserregenden Wirkungen der pathogenen Mikroorganismen zu.

Die Toxine werden in Toxalbumine und Proteine unterschieden *(Klemperer)*.

Toxalbumine sind Eiweisskörper, welche durch das Wachsthum der Bakterien auf den Nährmaterialien, besonders in Bouillon, entstehen. Ihre Wirksamkeit ist an bestimmte Temperaturgrade gebunden; beim Sieden zersetzen sich die Toxalbumine. Ihre Kenntnis verdanken wir den Arbeiten von *Roux, Yersin, Brieger* und *C. Fraenkel.*

Proteine sind Eiweisskörper, die in der Leibessubstanz der Bakterien enthalten sind. Sie unterscheiden sich von den Toxalbuminen besonders dadurch, dass sie auch durch ein stundenlanges Sieden nicht zersetzt werden. Sie wurden von *Nencki* entdeckt und von *Buchner* studiert. Man erhält die Proteine reichlich, wenn man Reinculturen von Bakterien in ihrer Nährbouillon oder in wässerigen Aufschwemmungen kocht. Zu den Proteinen gehört auch das *Koch*sche Tuberculin.

Die Toxine haben die Eigenschaft, in geringen Mengen injiciert die Thiere gegen die Infection mit den betreffenden Bakterien immun zu machen.

Nach *Brieger* filtriert man die Culturen oder den Gewebssaft mit Hilfe von Thonzellen, macht so die Flüssigkeit keimfrei, fällt die Eiweisskörper mit der zehnfachen Menge absoluten Alkohols, löst sie in verdünntem Alkohol, fällt mit alkoholischer Sublimatlösung, entfernt das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff, löst mehrmals in Wasser auf und fällt schliesslich die Toxine mit absolutem Alkohol aus.

Ohne Filtration stellte *Scholl* aus Choleraculturen in Hühnereiern ein Toxopepton durch folgendes Verfahren dar: Das von den Bakterien verflüssigte Eiweiss wurde in die zehnfache Menge absoluten Alkohols eingegossen, der Niederschlag mit Alkohol ausgewaschen, mit Wasser digeriert und filtriert, die wässerige Lösung wurde wiederholt in schwach mit Essigsäure angesäuerten Aetheralkohol eingetragen, vom Rückstande abgegossen und dieser in alkalisch gemachtem Wasser aufgelöst; letztmalige Eintragung in reinen Aether und Verdampfen desselben führte zur Gewinnung der giftigen Substanz.

Um aus den Bakterienzellen selbst die Ptomaine zu gewinnen, werden nach *Buchner* Kartoffelculturen angelegt; die von ihnen abgestreifte Bakterienmasse wird in einer Reibschale mit etwas Wasser verrieben, mit dem fünfzigfachen Volumen einer halbprocentigen Kalilauge versetzt, dann im Wasserbade bis zur möglichst vollständigen Verflüssigung digeriert und durch mehrere kleine Filter filtriert. Das Filtrat wird mit verdünnter Essig- oder Salzsäure bis zur deutlichen sauren Reaction unter Vermeidung von Säureüberschuss versetzt. dadurch das Protein ausgefällt, auf einem Filter gesammelt, ausgewaschen und in schwach alkalischem Wasser aufgelöst.

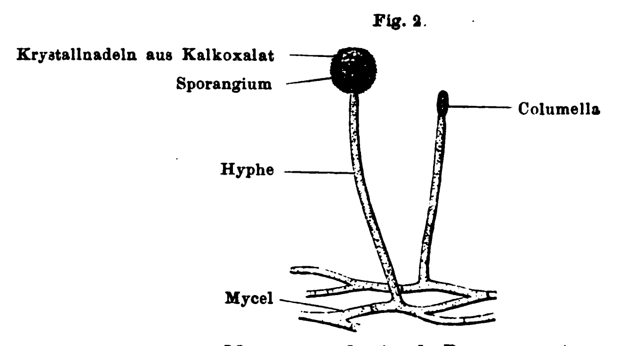
*Roemer* stellte seine Extracte aus dem Bacillus pyocyaneus und dem Pneumobacillus folgendermassen dar: Von gut entwickelten Kartoffelculturen wird die Bakterienmasse vorsichtig abgeschabt und mit der zehnfachen Menge destillierten Wassers zu einer feinen Emulsion verrieben. Nachdem diese Emulsion durch mehrstündiges Kochen sterilisiert ist, kommt sie auf etwa vier Wochen in den Brütofen. Innerhalb dieser Zeit muss sie häufig stundenlang ausgekocht werden, so dass sie bei der Verwendung durch 30—40 Stunden gekocht ist. Nach Ablauf der vier Wochen wird die Emulsion durch ein röhrenförmiges, aus Kaolin hergestelltes Filter (*Chamberland*'sche Kerze) oder ein Kieselguhrfilter filtriert; es geht eine klare, bräunliche oder gelbliche Flüssigkeit durch, die Eiweisskörper enthält.

*Koch* gewann sein Tuberculin durch Extraction aus den Reinculturen der Tuberkelbacillen. Er züchtete die Tuberkelbacillen auf Kalbfleischinfus, das schwach alkalisch ist und einen Zusatz von 1 Procent Pepton und 4—5 Procent Glycerin enthält. Die Culturgefässe werden so geimpft, dass ein nicht zu kleines Stück der Aussaatcultur auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmt, und dann bei 38° C. gehalten. Nach 3—4 Wochen ist die Oberfläche der Flüssigkeit von einer ziemlich dicken, oben trockenen und oft faltigen Haut bedeckt, welche nach weiteren 2—3 Wochen von der Flüssigkeit benetzt wird und schliesslich, in lappenförmige Stücke zerfallend, untersinkt. Die Culturen, deren Wachsthum also 6—8 Wochen in Anspruch nimmt, werden nach der vollen Reife auf dem Wasserbade auf den zehnten Theil ihres Volumens eingedampft und durch ein Thon- oder Kieselguhrfilter filtriert.

## Schimmelpilze.

Die Schimmelpilze sind zum grössten Theile Saprophyten, doch sind unter ihnen auch pathogene Arten aufgefunden worden.

Fig. 2.



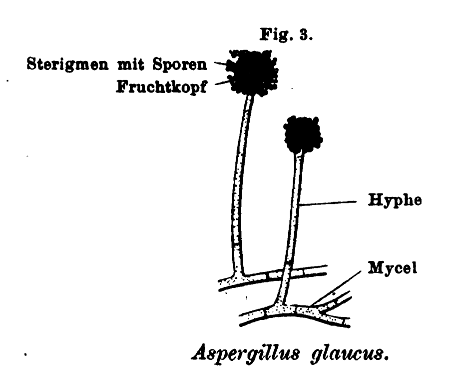

*Mucor mucedo (nach Baumgarten).*

Sie bilden Sporen, die sich wie die Sporen der Bakterien durch eine grosse Resistenz gegenüber äusseren Einflüssen auszeichnen und unter günstigen Bedingungen sich zu vollen Individuen entwickeln. Sie enthalten mitunter fettähnlich glänzende Tropfen.

Aus der Sporenhülle wächst ein Keimschlauch hervor, der sich durch Spitzenwachsthum verlängert und rasch ein sehr stark ver-

zweigtes Gewebe von Fäden bildet, das als Mycelium bezeichnet wird und besondere Fruchtträger (Hyphen oder Thallus) besitzt. Die Schimmelpilze führen nach diesen Hyphen den Namen

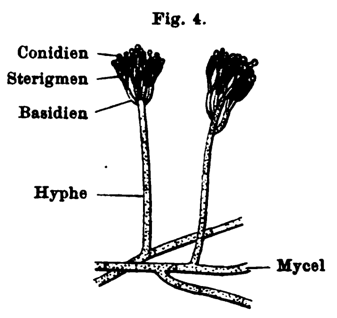
Fig. 3.




*Aspergillus glaucus.*

Hyphomyceten. Nach der Gestalt der Fruchtträger theilt man die Schimmelpilze ein in die Mucorineen, die Aspergillineen, die Penicilliaceen und die Oidiaceen.

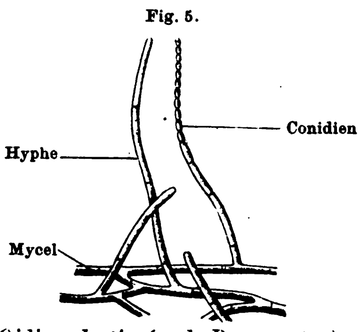
Fig. 4.




*Penicillium glaucum (nach Baumgarten). 400fache Vergrösserung.*

Bei den Mucorineen (Kopfschimmel) schwillt die Hyphe am Ende kolbig an (Columella) und es bildet sich um ihr Ende

Fig. 5.




*Oidium lactis (nach Baumgarten).*

herum eine Fruchtblase (Sporangium), in der sich die Sporen bilden, um nach ihrer Reife die Hülle zu sprengen (Fig. 2).

Bei den Aspergillineen (Kolbenschimmel) bedecken sich die kolbig angeschwollenen Enden der Hyphen mit einer wechselnden Anzahl von Sporenträgern (Sterigmen), von deren Ende sich die Sporen reihenweise abschnüren (Fig. 3).

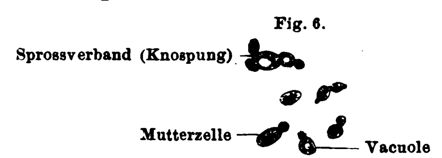
Die Hyphen der Penicilliaceen (Pinselschimmel) verzweigen sich, während sich die Hyphen der Mucor- und Aspergillusarten nicht verzweigen; an den Endästchen der so gebildeten Büschel, den Basidien, erscheinen die Sterigmen, von denen sich die Sporen (Conidien) kettenförmig abschnüren (Fig. 4).

Die Oidiaceen zeichnen sich dadurch aus, dass die Hyphen keine Sporenträger bilden, sondern sich an ihren Enden segmentieren und gliedweise die Sporen abschnüren (Fig. 5).

## Sprosspilze.

Die Sprosspilze besitzen weder Fruchtträger, noch Früchte, sondern vermehren sich durch Knospung, indem aus der sich allmälig vergrössernden Mutterzelle an verschiedenen Stellen Tochterzellen hervorsprossen und wieder zu Mutterzellen werden; so entstehen die Sprossverbände. Die einzelnen Zellen (Hefezellen) sind rund oder elliptisch und zeigen in ihrem Leibe oft helle Lücken,

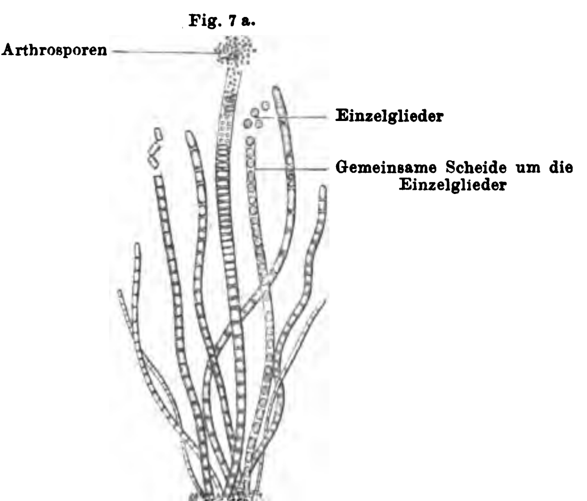
Fig. 6.




*Hefezellen (Saccharomyces cerevisiae). 900fach vergrössert.*

die keine Sporen sind, sondern von Fetttröpfchen erzeugt sein dürften und Vacuolen genannt werden. Die Sprosspilze spielen in der Natur als Gährungserreger eine bedeutende Rolle; eine Anzahl von Hefearten bildet Farbstoffe (Fig. 6).

Fig. 7 a.

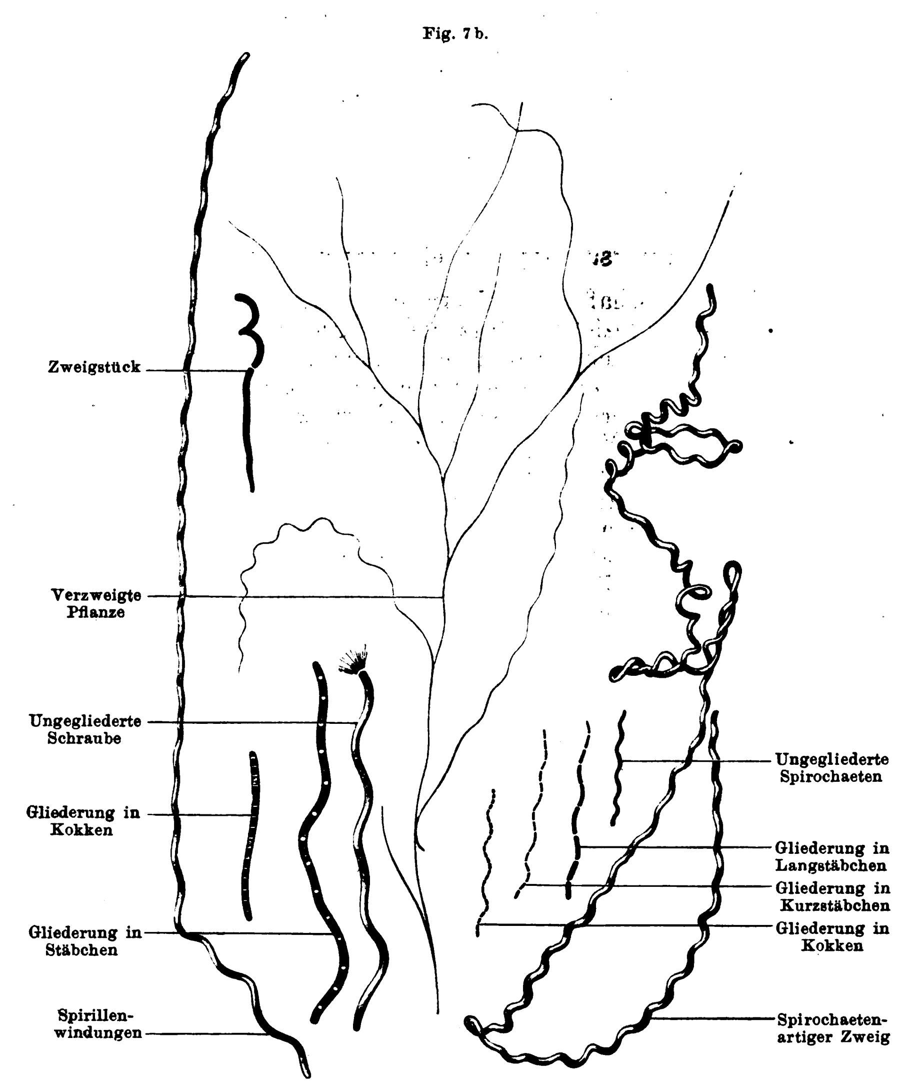



*Crenothrix Kühniana (nach Zopf). 600fache Vergrösserung.*

## Algen.

Von den Algen gehören zu den Mikroorganismen die Cladothrix-, Crenothrix- und Beggiatoaarten. Sie sind gegliederte

Fig. 7b.




*Vegetationsformen von Cladothrix dichotoma (nach Zopf).*

Fäden, die sich nicht durch Theilung, sondern durch Spitzenwachsthum vermehren (Fig. 7).

## Protozoen.

Von den Protozoen sind für die bakteriologische Untersuchung die Sporozoen (Gregarinen, Psorospermien, Coccidien)

wichtig; sie sind einzellige Organismen, die nur in einem feuchten oder flüssigen Stadium leben können und sich bei Wasser-, Nahrungs- oder Sauerstoffmangel zu rundlichen, dauerhaften Cysten umgestalten. Sie besitzen eine Art Larvenzustand, unregelmässig rundliche Plasmaklümpchen, die sich mittelst armartig ausgeschickter Ausläufer (Pseudopodien) oder mittelst Geisseln bewegen und oft in Zellen unter Verlust der Bewegung sesshaft machen. Der Inhalt der Cyste zerfällt durch Theilung oder Knospung zu Theilstücken (Sporocysten oder Pseudonavicellen), deren Inhalt wieder in eine Anzahl von Sichelkeimen zerfällt. *Pfeiffer* hält auch die Plasmodien der Malaria für Schwärmsporencysten.

## Untersuchung der Mikroorganismen.

Um die Eigenschaften der Mikroorganismen in morphologischer und in biologischer Beziehung festzustellen, genügt die mikroskopische Untersuchung allein nicht; man muss versuchen, Reinzüchtungen herzustellen und diese einerseits der mikroskopischen Untersuchung zu unterwerfen, andererseits sie auf gährungs- oder fäulnisfähige Substanzen oder auf Versuchsthiere zu übertragen. Um aber Reinculturen herzustellen, müssen die dazu verwendeten Instrumente und Utensilien von den an ihnen haftenden Mikroorganismen befreit (sterilisiert) werden.

Es erscheint deshalb zweckgemäss, zuerst die Sterilisation, dann die Herstellung der Nährboden, hierauf die mikroskopische Untersuchung und endlich die Uebertragungsmethoden zu besprechen.

---

# Sterilisation.

Die Sterilisation besteht darin, dass sowohl die Instrumente, als auch die Nährmittel keimfrei gemacht werden. Dies wird auf verschiedene Weise erreicht.

## Sterilisation durch die Wärme.

Gegenstände, welche die Glühhitze vertragen, werden am besten dadurch sterilisiert, dass sie in der Flamme eines Bunsenbrenners oder einer Spirituslampe bis zum Roth- oder Weissglühen erhitzt werden (Ausglühen). Dies bezieht sich besonders auf kleine Drähte oder Plättchen aus Platin.

Körper, welche keine hohe Widerstandsfähigkeit besitzen oder aus Rücksicht auf die Güte und Schärfe der Instrumente der Glühhitze nicht ausgesetzt werden sollen, werden durch längere Zeit einer Temperatur von 150° C. unterworfen, wobei sowohl die Mikroorganismen, als auch deren Sporen getödtet werden. Man benützt hierzu zweckmässig einen aus Eisenblech construierten Kasten mit doppelten Wandungen, die eine Luftschichte zwischen sich enthalten (Trockenschrank oder Heissluftsterilisationsofen); der Kasten darf nicht gelöthet, sondern muss genietet sein. Durch einen untergestellten starken Gasbrenner oder durch Vereinigung mehrerer kleiner Brenner wird die Temperatur des Inneren sehr rasch auf 160—170° gebracht; es genügt schon eine halbe Stunde zur Sterilisation. In dem Dache des Schrankes befinden sich zwei Oeffnungen für ein Thermometer, das in den Innenraum reicht, und für ein Thermometer, das die Temperatur in dem Zwischenraume zwischen den Eisenwänden angibt, und ausserdem noch eine Klappe, die zur Regulirung der Temperatur dient. Diese Vorrichtung ist geeignet, Instrumente, Apparate, Glasgegenstände etc. keimfrei zu machen (Fig. 8).

Damit die Kolben und Reagensgläser nach der Sterilisation nicht wieder inficiert werden, so müssen sie, bevor sie in den Trockenschrank gebracht werden, mit einem Wattapfropf verschlossen werden; der Wattapfropf gestattet der Luft den Zutritt in das Innere des Gefässes, hält aber die in der Luft enthaltenen Keime zurück.

Der Wattapfropf kann noch mit einer Kautschukkappe überzogen werden.

Stabsarzt *Schill* empfiehlt an der Stelle des Wattaverschlusses die Anwendung von Doppelreagensgläsern. Es werden Eprouvetten aus stärkerem Glase verwendet, welche einen geraden, glatten

Fig. 8.



*Trockenschrank (Heissluftsterilisationsofen).*

Rand besitzen. Ueber das untere Reagensglas wird als Deckel ein um so viel weiteres Rohr geschoben, dass zwischen der Aussenwand des unteren und der Innenwand des oberen Glases nur ein papierdicker Zwischenraum bleibt; das untere Reagensglas ist doppelt so lang als das obere.

## Sterilisation durch strömenden Wasserdampf.

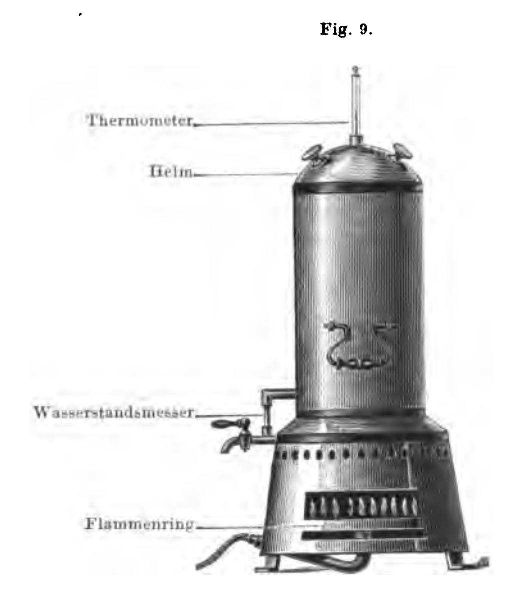
Gegenstände, die so hohen Temperaturen nicht ausgesetzt werden können, werden durch erhitzten Wasserdampf von 100° C. sterilisiert. Man benützt hierzu einen nicht ganz meterhohen, cylindrischen Kasten aus Kupferblech von ungefähr 20 Cm. Durchmesser; zum Schutze gegen Wärmeverluste ist der Kasten mit Filz oder Asbest umkleidet und durch einen gleichfalls mit Filz umkleideten Deckel (Helm) verschliessbar; der Deckel ist mit einer Oeffnung zur Aufnahme eines Thermometers versehen und schliesst nicht luftdicht (Fig. 9). Der Boden des Kastens ist doppelt; der obere Boden ist von einem Rost gebildet und steht ungefähr 30 Cm. über dem unteren Boden. Der Zwischenraum zwischen den beiden Böden wird ungefähr bis zur Hälfte mit Wasser gefüllt, dessen Höhe an einem seitlichen Communicationsröhrchen abgelesen wird (*Koch*'scher Dampfkochtopf).

Die zu sterilisierenden Gegenstände werden in einen mit einem Deckel versehenen Blechtopf gebracht, der ebenfalls einen rostähn-

lichen Boden besitzt. Ein halbstündiger bis einstündiger Aufenthalt, vom Augenblicke der reichlichen Dampferzeugung an gerechnet, genügt zur vollständigen Sterilisation.

Für Arbeitsräume, denen kein Gas zur Verfügung steht, ist der *Budenberg*'sche Dampfentwickler äusserst vortheilhaft. Der Desinfectionscylinder steht durch ein etwa 4 Cm. weites Rohr mit einer flachen, ringsum geschlossenen Verdampfungsschale in Verbindung, in der Wasser zur Verdampfung gebracht wird. Der Desinfectionsraum ist von einem glockenförmigen Cylinder überdeckt, in dem ein Thermometer angebracht ist, und der zur Condensation des Dampfes dient. Das so erhaltene Wasser tropft in eine vor der Anheizung mit destilliertem Wasser gefüllte Schale zurück, die auf der oberen Wand der Verdampfungsschale sitzt und mit ihr durch einige kleine Oeffnungen in Verbindung steht.

Fig. 9.




*Dampfkochtopf (nach Koch).*

Manche Stoffe, wie die Nährmaterialien, ertragen wegen ihres Eiweissgehaltes die längere Einwirkung einer Temperatur von 100° C. nicht, ohne Umsetzungen zu erfahren. So verliert Gelatine bei zu langem Erhitzen die Erstarrungsfähigkeit, welche allein sie zu bakteriologischen Untersuchungen verwendbar macht. Es ist daher zweckmässig, alle Nährböden an drei auf einander folgenden Tagen bis zu einer Viertelstunde dem strömenden Wasserdampfe auszusetzen. Das Erhitzen am ersten Tage tödtet alle vorhandenen Mikroorganismen und die meisten Sporen; ein Theil der noch vorhandenen Sporen entwickelt sich bis zum nächsten Tage zu Mikroorganismen, die beim zweiten Erhitzen zu Grunde gehen; der Rest wird am dritten Tage abgetödtet.

## Fractionierte Sterilisation.

Gewisse Substanzen, besonders das Blutserum, erfahren aber auch bei der kurzen Sterilisation im strömenden Dampfe noch so viele Umsetzungen, dass sie zu Nährböden nicht mehr tauglich erscheinen. In solchen Fällen muss die von *Tyndall* eingeführte discontinuierliche (fractionierte) Sterilisation Platz greifen. In Kästen von doppelten Wandungen, zwischen denen sich Wasser befindet, dessen Temperatur mittelst eines Thermoregulators auf einen bestimmten Grad eingestellt wird, werden sie eine Woche lang jeden Tag durch 3—4 Stunden auf 54—56° erhitzt. Nach *Heim* kann man die Reagensgläschen in das warme Wasser eines Wasserbades stellen, dessen Temperatur constant auf der oben angegebenen Höhe erhalten wird.

## Sterilisation durch den gespannten Wasserdampf.

Eine raschere Wirkung als der strömende Wasserdampf von 100° C. entfaltet der gespannte Wasserdampf, der in den Autoclaven zur Verwendung kommt.

## Desinfectionsmittel.

Neben der hohen Temperatur werden noch verschiedene chemische Mittel zur Sterilisation verwendet. Vor Allem wirken keimtödtend die Carbolsäure in starken Lösungen, das Sublimat in $^1/_{10}$procentiger Lösung und der Aetzkalk; daneben besitzen auch Chlorwasser, Jodwasser, Bromwasser, 1procentige Osmiumsäure, 1procentiges übermangansaures Kali, Terpentinöl, Eisenchlorid etc. eine mehr oder weniger intensive Desinfectionskraft. Von diesen Desinfectionsmitteln wird gegenwärtig meist das Sublimat in $^1/_{10}$procentiger Lösung verwendet.

Nach *Heider* kann bei einer grossen Anzahl von Desinfectionsmitteln durch eine mässige Erhöhung der Temperatur eine sehr bedeutende Erhöhung ihrer Wirksamkeit erzielt werden.

*Kirchner* empfiehlt das Chloroform als ein ausgezeichnetes Desinficiens. Es hat den Vorzug grosser Wirksamkeit und eines niedrigen Siedepunktes, so dass es aus den Flüssigkeiten nach vollendeter Sterilisierung durch Erhitzen mit Sicherheit vertrieben werden kann. Besonders eignet es sich für die Sterilisation von Blutserum, das man hohen Temperaturen nicht aussetzen darf und deshalb, wie *Globig* gezeigt hat, auf dem Wege der discontinuierlichen Sterilisation nicht von den Keimen jener Mikroorganismen befreien kann, welche erst bei 50° C. gedeihen und noch eine Temperatur von 70° C. vertragen können. Um mittelst des Chloroforms zu sterilisieren, schüttelt man die betreffenden Flüssigkeiten mit Chloroform in Ueberschuss und lässt einige Tage stehen. Vor dem Gebrauche werden sie durch einstündiges Erhitzen auf 62° C. — der Siedepunkt des Chloroforms befindet sich bei 61·2° — vom Chloroform befreit.

Bei den bakteriologischen Arbeiten ist es oft nöthig, mehrere Sterilisationsmethoden anzuwenden, um eine vollkommene Keimtödtung

zu erzielen; die Wahl der Methode richtet sich stets nach den zu sterilisierenden Körpern. Um Instrumente zu sterilisieren, genügt nach *Davidsohn* ein fünf Minuten dauerndes Auskochen in Wasser. Allenfalls kann man auch Platten über einer Spiritusflamme oder einer Gasflamme sterilisieren, nachdem man sie mit Alkohol und Sublimat gereinigt hat. Nach der Erhitzung werden sie dann mit der erhitzten Seite nach oben auf einen Bogen reinen Papiers gelegt und nur mit einem ebenfalls mit Alkohol und Sublimat gereinigten Glassturze, eventuell mit einem gereinigten Suppenteller, bedeckt.

Besonders wichtig ist die Sauberkeit aller mit den Bakterien in Berührung kommenden Gegenstände. In der praktischen Anwendung der Bakteriologie auf die Chirurgie ergibt sich deshalb die Nothwendigkeit einer äusserst sorgsamen Reinigung der Hände, der Instrumente und Verbandmaterialien, um ein aseptisches Vorgehen zu ermöglichen.

Es ist dazu ein gründliches Abbürsten der mit Seife sorgfältig gereinigten Hände, ein Abspülen mit Alkohol und Aether und ein Waschen mit 1 promilliger Sublimatlösung unbedingt nothwendig.

## Apparate und Reagentien.

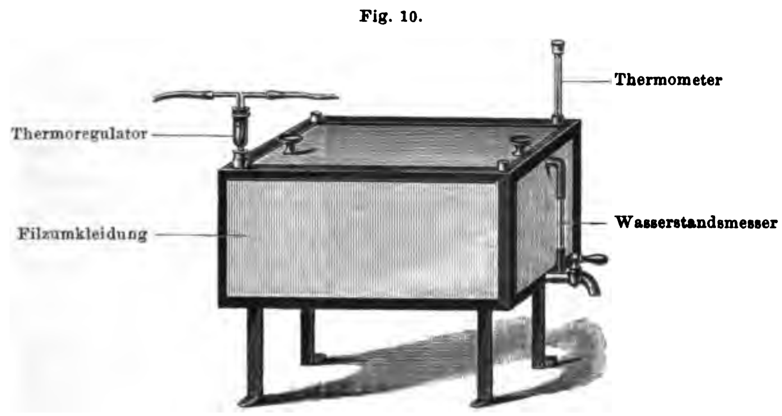
Ein Mikroskop mit *Abbe*'schem Beleuchtungsapparate, Luftlinsen von verschiedener Vergrösserung und Oelimmersion.

Der oben beschriebene Dampfkochtopf mit der dazu gehörigen Gasflamme und einem Thermometer.

### Wärmeschrank.

Der Wärmeschrank (Brutkasten) stellt einen viereckigen Kasten aus stärkerem Blech mit doppelten Wandungen dar; der

Fig. 10.




*Wärmeschrank (Brutkasten).*

Raum zwischen den Wänden ist mit Wasser gefüllt und besitzt zwei Oeffnungen, in deren einer ein in das Wasser hineinreichendes Thermometer, in der anderen ein Thermoregulator angebracht

ist. Ein passender Deckel verschliesst von oben den Kasten. Der ganze Apparat ist mit Filz umgeben bis auf die unten zu erhitzende Fläche. In dem Raume können Unterabtheilungen angebracht werden. Eine aussen befindliche Communicationsröhre aus Glas zeigt die Höhe des Wasserstandes an. Zum Erwärmen des Apparates dienen kleine Gasflammen (Mikrobrenner), die durch Glimmerhülsen vor Luftströmungen geschützt werden. Der Wärmekasten dient dazu, um Culturen von Mikroorganismen unter gewissen constanten Temperaturen zu erhalten, wenn deren Gedeihen bei niedrigeren oder höheren Temperaturgraden nicht erfolgt (Fig. 10).

Zur Erzielung einer gleichmässigen Temperatur wird der Thermoregulator verwendet, der bis auf minimale Schwankungen die Temperatur auf gleicher Höhe erhält. Die Gasregulatoren haben die Aufgabe, die Flamme beim Sinken der Temperatur zu vergrössern und beim Steigen zu verkleinern. *Bunsen* benützt dazu das Steigen und Fallen des Quecksilbers. Für den Fall, dass die Oeffnung zum Durchströmen des Gases verschlossen wird, brachte er eine Sicherheitsöffnung, das sogenannte Nothloch, an, um so viel Gas durchströmen zu lassen, dass die Flamme nicht auslösche. Nach diesem Principe wurden verschiedene Regulatoren construiert.

## Thermoregulator nach Schenk.

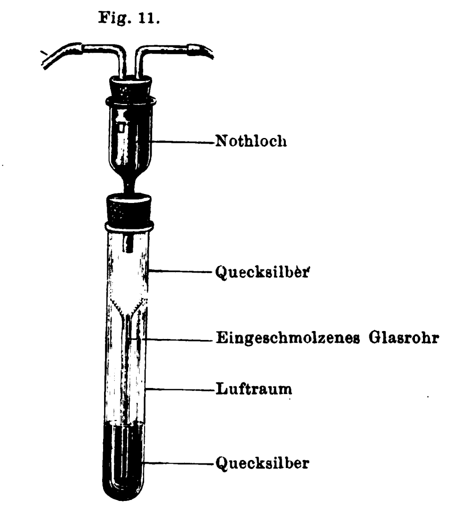
Ein in meinem Institute für den Brutschrank verwendeter Regulator ist folgendermassen construiert (zu erhalten bei Siebert in Wien, Alserstrasse 19): In einem eprouvettenähnlichen Glasgefässe ist ein Glasrohr derart eingeschmolzen, dass das erweiterte Ende an der Wandung des ersteren Gefässes luftdicht anhaftet. Füllt man dieses Gefäss mit Quecksilber, so wird ein Theil des Quecksilbers durch das schmale Glasrohr auf den Boden des weiteren Gefässes sinken, ein Theil füllt das schmale Rohr und steht oberhalb desselben in der Eprouvette so hoch, dass diese durch einen einmal durchbohrten Kork verschlossen sein kann. Die in ihr befindliche Luft erhöht die Empfindlichkeit des Apparates, indem ihre durch Temperaturdifferenzen bewirkte Volumsänderung das Quecksilber rascher hebt und senkt. In den Kork passt ein zweites Glasrohr, das in der oberen Hälfte erweitert ist. In die Erweiterung kommt ein doppelt durchbohrter Kork, in dem sich zwei knieförmig gebogene Röhren befinden; das eine Rohr reicht bis in die verengerte Stelle des oberen Ansatzstückes, ist schief abgeschliffen und besitzt in der Seitenwandung ein kleines Nothloch; das andere Rohr ist einfach gebogen und ragt bis unterhalb des oberen Korkes.

Wenn der Apparat gebraucht werden soll, so wird er zwischen das Gasöffnungsrohr und den Brenner eingeschoben. Es geschieht dies derart, dass man in jedes Knieröhrchen ein Kautschukrohr, das eine vom Brenner, das andere vom Gashahn einpasst. Das eprouvettenähnliche Gefäss, mit der entsprechenden Quantität Quecksilber versorgt, kommt in das den Brutofen umgebende Wasser; wird das Wasser erwärmt, so steigt die Quecksilbersäule, während das Gas aus dem einen Knieröhrchen in das andere überströmt. Ist die Temperatur so hoch, dass die Quecksilbersäule das längere, schief

abgeschnittene, knieförmig gebogene Röhrchen erreicht und dessen Mündung verschliesst, dann ist die Grenze der Temperatur festgestellt, bei der der Brutofen constant erhalten bleiben kann. Es müsste nun, sobald diese Oeffnung durch Quecksilber bedeckt ist, die Gasströmung aufhören und die Flamme des Brenners verlöschen, wenn nicht durch die Nothöffnung so viel Gas durchströmen würde, dass die Flamme noch erhalten bleibt. Nun soll der Regulator derart mit Quecksilber gefüllt sein, dass diese Grenze bei der Bruttemperatur erreicht werde. Durch Höher- und Tieferstellen des Glasrohres über der Eprouvette kann man alsdann die Temperatur um einige Grade höher oder tiefer je nach Bedarf stellen.

Wenn die Temperatur des Wassers, in dem sich der quecksilberhaltende Theil des Apparates befindet, steigt, so muss die Oeffnung, durch die das Gas strömt, immer kleiner werden. Dadurch kühlt sich die Wassermasse ab und das Quecksilber sinkt, die Oeffnung

Fig. 11.




*Thermoregulator (nach Schenk).*

zur Gasströmung wird wieder grösser, mit ihr auch die Flamme und die Temperatur kann wieder ansteigen, jedoch die Grenze nicht überschreiten, für welche der Regulator eingestellt ist. Bei einer guten Handhabung sind die Schwankungen nur minimal (Fig. 11).

## Thermoregulator nach Meyer.

Ein zweiter, von *V. Meyer* construierter Thermoregulator, der in ausgebreiteter Weise in Verwendung steht und wegen seiner Empfindlichkeit sehr zu empfehlen ist, besteht ebenfalls aus einem durch einen Gummipfropf verschliessbaren, eprouvettenähnlichen Glasgefäss, das oben ein kleines Seitenrohr trägt und durch einen gläsernen, unmittelbar über dessen Boden endenden Capillartrichter in zwei Abschnitte getheilt wird. Die untere Abtheilung ist mit Quecksilber gefüllt, dessen Oberfläche nur etwa 3 Cm. vom Rande des Trichters

entfernt ist; dieser Zwischenraum wird durch eine Mischung von Alkohol und Aether ausgefüllt. Im oberen Theile befindet sich eine, den Gummipfropf durchbohrende, unten schräg abgeschnittene Glasröhre, die etwas über der Oeffnung des Capillartrichters aufhört und oberhalb der unteren Mündung ein seitliches, stecknadelkopfgrosses Loch (Nothloch) trägt.

Um den Regulator zu aichen, taucht man ihn in ein Wasserbad, dessen Temperatur durch ein genaues Thermometer controliert wird; schon bei einer geringen Temperatursteigerung verflüchtigt sich der Aether und treibt das Quecksilber in die Höhe, so dass es über dem Capillartrichter zu stehen kommt. Hat nun das Wasser die bestimmte Temperatur erreicht, so wird die schräg abgeschnittene Glasröhre so weit in das Quecksilber eingetaucht, dass die untere Oeffnung ganz verlegt wird und nur das Nothloch offen bleibt. Nun wird der Regulator so mit der Flamme unter dem Wärmeschrank verbunden, dass diese nur jene Gasmenge erhält, die den Regulator passieren kann. Erreicht das Wasser eine zu hohe Temperatur, so verdampft der Aether und bringt das Quecksilber zum Steigen, das die schräg abgeschnittene Röhre immer mehr verschliesst, bis nur mehr das Nothloch offen und der Gasaustritt auf das geringste Mass beschränkt ist. Wenn die Temperatur sinkt, so zieht sich das Alkohol-Aethergemisch wieder zusammen, das Quecksilber sinkt, der Gaszufluss nimmt zu und die Temperatur des Wassers steigt wieder.

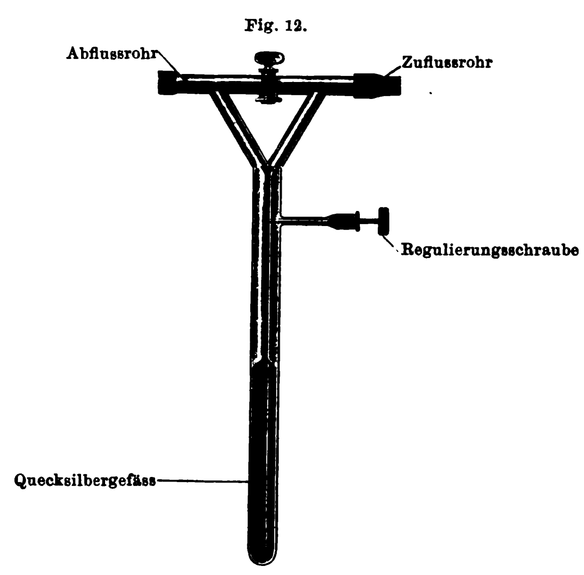
## Thermoregulator nach Gärtner.

*Gärtner* construierte einen Thermoregulator, der an Stelle des Nothloches einen Nebenweg für das Gas besitzt; dieser besteht aus einem durch eine Schraubenklemme comprimierbaren Gasschlauche, der es verhindert, dass bei steigendem Gasdrucke das Minimalflämmchen, welches auch dann noch brennen muss, wenn der eigentliche Regulator den Gaszufluss ganz abschliesst, zu gross ausfalle.

## Thermoregulator nach Altmann.

Nach dem *Gärtner*'schen Principe ist der *Altmann*'sche Thermoregulator construiert, der ein horizontales, durch einen Hahn absperrbares Rohr besitzt, von welchem zu beiden Seiten des Hahnes in schräger Richtung Seitenrohre abgehen, um sich unter einem spitzen Winkel zu einem senkrechten Rohre zu vereinigen. In diesem senkrechten Rohre befindet sich ein zu einer Capillare ausgezogenes, mit Quecksilber gefülltes Gefäss, in dem das Quecksilber so steht, dass der convexe Meniscus die Oeffnung des Winkels, unter dem die Schrägrohre zusammenstossen, gerade zu verschliessen beginnt. Wenn sich das untere Ende des Regulators in einer zu warmen Zone befindet, so dehnt sich das Quecksilber in der Capillare aus und erlaubt dem Gase nur, durch das horizontale Rohr zu streichen, indem durch den Hahn die Zuströmung des Gases noch weiter beschränkt werden kann. Die Höhe des Quecksilbers im senkrechten Rohre kann durch eine seitliche Schraube reguliert werden (Fig. 12).

Fig. 12.

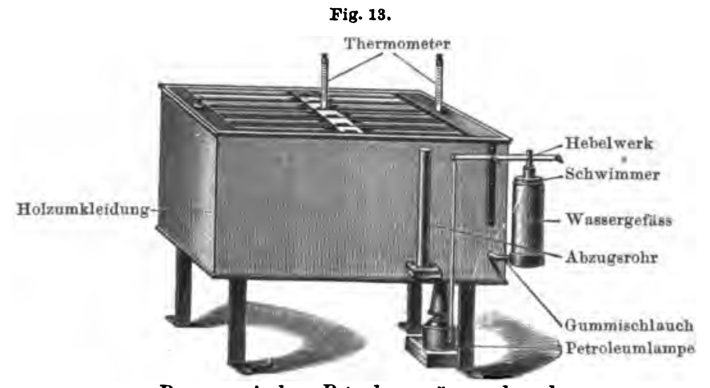



*Thermoregulator (nach Altmann).*

## Petroleumwärmeschrank.

Wenn man nicht über Gasleitung im Arbeitsraume verfügt, können Wärmeschränke verwendet werden, die durch Petroleum erwärmt werden. Man hat auch hier Vorrichtungen, die geeignet sind, die Temperatur im Schranke zu regulieren. Ein solcher Schrank ist aus Holz und enthält innen einen Blechkasten, an dessen Boden

Fig. 13.




***Baumeyer'scher Petroleumwärmeschrank.***

sich ein Heizcanal mit einem an der Aussenwand senkrecht aufsteigenden Abzugrohre befindet. In den Heizcanal mündet die Flamme einer Petroleumlampe, welche das in sechs mit dem Blechkasten wasserdicht verbundenen Gummischläuchen circulierende Wasser erwärmt. An der Aussenseite ist eine senkrechte Röhre so angebracht, dass ihr Wasserspiegel bei der Erhöhung der Temperatur steigt; in

ihr befindet sich ein Schwimmer mit einem Hebel, der auf eine mit der Lampe in Verbindung stehende Stange drückt, welche die Flamme der Petroleumlampe zu regulieren vermag (Fig. 13). Beim Sinken des Wasserspiegels wird die Stange gehoben und die Flamme vergrössert, beim Steigen des Wassers wird die Flamme verkleinert (*Baumeyer*-scher Apparat).

Vorrichtungen zum Vorwärmen und Kochen, wie Wasser- und Sandbäder mit den entsprechenden Stativen, Gasbrenner, ein Eisschrank zum Abkühlen, Kolben, Reagensgläser, Trichter und Schalen der verschiedensten Art gehören weiterhin zu den nothwendigen Gebrauchsgegenständen eines bakteriologischen Laboratoriums.

## Heissfiltriertrichter.

Eine Art von Trichtern, die als Heissfiltriertrichter bezeichnet werden, kommt häufig in Gebrauch, wenn es nöthig ist, die Nährböden, die bei gewöhnlicher Temperatur erstarren, in heissem Zustande zu filtrieren. Ein solcher Trichter ist doppelwandig, aus Kupfer-, Messing- oder Eisenblech, mit einem seitlichen Anhange, der durch eine Flamme erwärmt wird. Sehr zweckmässig sind jene

Fig. 14.



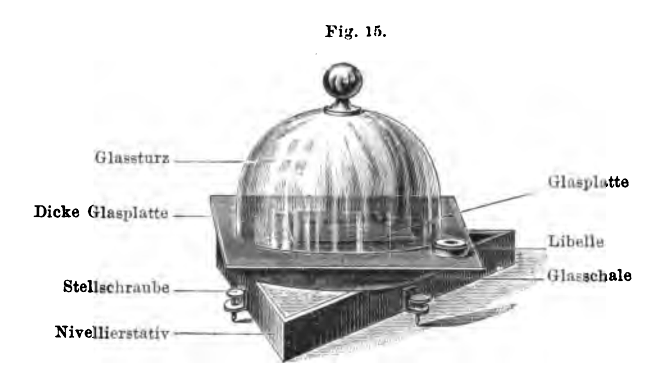
*Heissfiltriertrichter mit Flammenring.*

Heisswassertrichter, deren Heizvorrichtung in einem an dem unteren Theile der Aussenfläche angebrachten Flammenringe besteht. Wird der Raum zwischen den Wandungen durch eine oben befindliche Oeffnung mit Wasser gefüllt und dieses erwärmt, so kann Gelatine- oder Agarmasse durch einen passenden Glastrichter, der im Heisswassertrichter steckt, in der Wärme filtriert werden (Fig. 14).

## Plattengiessapparat.

Zum Giessen der Nährgelatine auf Platten steht ein Nivellierapparat (Plattengiessapparat) im Gebrauche, der derart gestellt werden muss, dass die Platte horizontal steht, damit die aufgegossene Gelatine nicht leicht abfliesse. Der Nivellierapparat besteht aus einem Dreiecke aus Holz, dessen Füsschen von Stellschrauben gebildet werden. Auf diesem Dreiecke (Nivellierstativ) befindet sich eine grössere Glasschale, die mit Wasser und Eisstückchen gefüllt

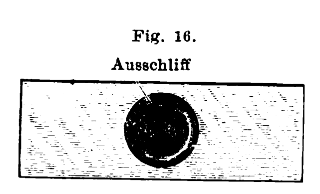
Fig. 15.




und mit einer dicken Glasplatte oder mit einer Eisenplatte bedeckt wird. Mit Hilfe einer Wasserwage (Libelle) wird die Platte in eine horizontale Lage gebracht, und es können Glasplatten für die Gelatine aufgelegt und durch Glasglocken geschützt werden (Fig. 15).

Zur Durchführung der Culturen sind feuchte Kammern in Anwendung; sie bestehen aus Glas und sind im Durchmesser ungefähr 24 Cm. gross und 6—7 Cm. hoch.

Fig. 16.




*Hohler Objectträger.*

Fig. 17.



*Drahtkorb.*

Statt der gewöhnlichen Glasplatten, welche die Grösse von photographischen Platten haben, werden auch runde Glasschälchen verwendet; die *Petri*'schen Schalen stellen flache Doppelschalen dar, deren untere einen Durchmesser von 10 Cm. besitzt.

Die *Soyka*'schen Platten sind den *Petri*'schen Schalen ähnlich, unterscheiden sich aber dadurch, dass in die untere Platte 8—10 Vertiefungen eingeschliffen sind, die den Vertiefungen der hohlgeschliffenen Objectträger entsprechen.

Ausserdem werden sämmtliche Gegenstände, die bei mikroskopischen Untersuchungen verwendet werden, gebraucht. Die Objectträger zum Untersuchen der Mikroorganismen im „hängenden Tropfen“ besitzen in der Mitte eine ausgeschliffene Vertiefung, die mit einem an der Unterseite mit den Mikroorganismen beschickten Deckgläschen bedeckt wird (Fig. 16).

Zur Aufnahme der zu sterilisierenden Glasgeräthe, namentlich der Eprouvetten, werden verzinkte Drahtkörbe verwendet (Fig. 17).

## Reagentien.

Von den bei den bakteriologischen Untersuchungen benützten Reagentien lässt sich kaum eine vollständige Reihe anführen. Es muss jedesmal nach der Art der Untersuchung so viel als möglich das Gebiet der Hilfswissenschaften und somit auch die Chemie herangezogen werden. Man benützt im Allgemeinen Säuren, Salze, desinficierende Flüssigkeiten, verschiedene Oele, Farbstoffe und anderweitige Droguen.

Von den Säuren stehen Schwefelsäure, Salpetersäure, Chromsäure, Essigsäure und Oxalsäure, in selteneren Fällen auch verdünnte Osmiumsäure in Verwendung.

Von den Alkalien benützt man Kalilauge, Natronlauge, Kalkwasser, die doppeltkohlensauren Salze des Kaliums und Natriums, Chlornatrium, Jodkali, Eisenchlorid, kohlensaures Ammoniak und Kaliammoniakalaun.

Jod wird in Substanz und als Tinctur gebraucht.

Als wichtiges Desinficiens steht Chloroform, insbesondere für die Sterilisation von Blutserum, in Verwendung.

Sublimatlösungen von 1 pro mille angefangen und Carbolsäure sind nothwendige Reagentien für den bakteriologischen Arbeitstisch.

Von den Oelen stehen Anilinöl, Cedernöl, Bergamottöl und Nelkenöl in Gebrauch, theils zur Aufhellung der mikroskopischen Präparate, theils als Lösungsmittel.

Zur Einbettung wird Paraffin, eine härtere und eine weichere Sorte, und Celloidin verwendet.

Zur Conservierung der mikroskopischen Präparate benützt man Canadabalsam, seltener Glycerin.

Glycerin findet aber bei der Bereitung der Nährmaterialien in ausgedehntester Weise Verwendung.

Zur Herstellung der Nährsubstanzen benützt man Gelatine, Agar-Agar, Blutserum, Hühnereiweiss, Eiweiss der Eier von Nesthockern, Kartoffel, Stärke, Kleister, Milch, Reis und Brot. Ihre Anwendung soll bei der Beschreibung der Nährböden ausführlich besprochen werden.

## Farbstoffe.

Nun folgt eine Reihe von Farbstoffen, deren Verwendung bei der Herstellung von bakteriologischen Präparaten unerlässlich ist.

Fuchsin, Methylenblau, Gentianaviolett, Bismarckbraun, Methylviolett, Malachitgrün, Eosin, Safranin, Victoriablau und Dahlia sind

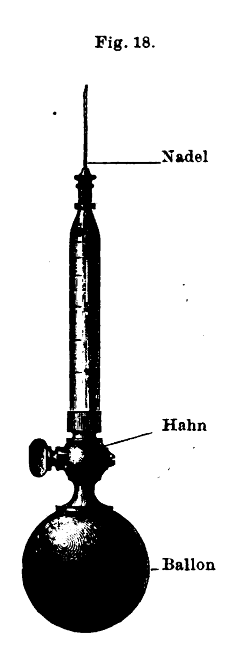
Anilinfarbstoffe, mit denen man für alle Untersuchungen so ziemlich ausreicht. Ausserdem sind Carmin, Pikrocarmin, Pikrinsäure, Hämatoxylin und Magdalaroth bei der Herstellung von Gewebspräparaten nothwendig. Für gewisse Färbungsmethoden werden noch andere Farbstoffe verwendet, wie Extractum campechianum u. s. w.

Destilliertes Wasser, Alkohol, Aether, Xylol und Terpentinöl ergänzen den Reagenskasten.

## Andere Utensilien.

Platindrähte mit Oesen werden in Glasstäbe eingeschmolzen, was zweckmässig über einem *Bunsen*'schen Brenner oder mit Hilfe eines Gasgebläses geschieht.

Fig. 18.




Von den Instrumenten sind Scalpelle, Scheren, Pincetten, Nadeln verschiedener Art, Haken, Impfnadeln, *Pravaz*'sche Spritzen (zweckmässiger die *Koch*'sche Spritze, Fig. 18) nothwendig.

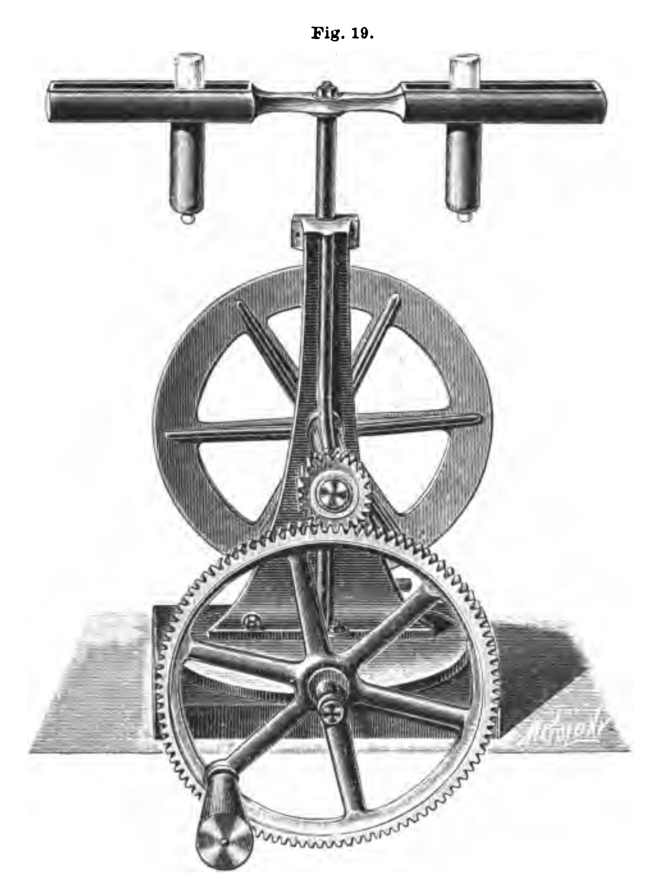
Bei der Herstellung der Nährböden und bei der Verwendung derselben zu Culturen sind Kolben, Reagensgläser, Schalen, Platten, Pipetten, Glasklötze oder Glasbänkchen, Kartoffelmesser etc. in Verwendung.

Mit den bisher angeführten Utensilien kann ein Laboratorium die bakteriologischen Arbeiten beginnen; nur ist zu bemerken, dass die für alle technischen Arbeiten nöthigen Gegenstände, wie beispielsweise Arbeitstische, Reagensschränke, Eprouvettenständer, Korke, Fleischpressen, Wagen, Glas- und Metallgefässe verschiedenster Art, Fliesspapier etc. vorhanden sein müssen.

## Centrifuge.

Zur Untersuchung von Flüssigkeiten, die an corpusculären Elementen arm sind, hat *Stenbeck* eine Centrifuge für Handbetrieb angegeben, die einen Metallrahmen oder eine Scheibe mit mehreren Oeffnungen trägt, in denen Metallhülsen zur Aufnahme von Glasröhrchen stecken; in die Glasröhrchen wird die zu untersuchende Flüssigkeit eingetragen; die Röhrchen sind am unteren Ende mit einem kleinen Reservoir versehen, in die sie mit einer konischen Verjüngung übergehen und in dem sich der zu Boden geschleuderte

Fig. 19.



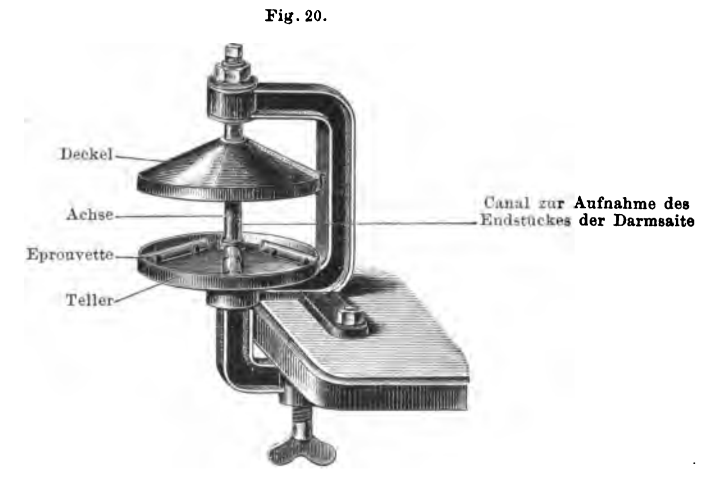
*Centrifuge von Stenbeck (nach Jaksch).*

Niederschlag ansammelt. *v. Jaksch* hat diese Centrifuge mehrfach modificiert (Fig. 19).

*Gärtner's* Centrifuge besteht aus einer Büchse aus Messingblech mit abhebbarem Deckel, deren Boden eine sehr flache Kegelfläche darstellt und Klammern für kleine Eprouvetten trägt. Die Eprouvetten kommen mit ihrer Oeffnung gegen das Centrum zu liegen und werden so weit mit der zu centrifugierenden Flüssigkeit gefüllt, dass sie bei der schiefen Lage der Gläschen nicht ausfliesst. Es

können auf einmal 6—8 Proben centrifugiert werden. Sind die Gläschen eingelegt, so wird der Deckel herabgesenkt und die Büchse wird mittelst eines Bajonettverschlusses geschlossen. Als Achse besitzt die Centrifuge eine Spindel, die in den Lagern eines gusseisernen Gestelles mit sehr wenig Reibung rotiert. Das Gestell dient zur Befestigung des ganzen Apparates am Tische oder Fensterbrett. Die Spindel ist unten von einem Canale durchbohrt, in dessen Oeffnung das Ende einer Darmsaite eingeführt wird; die Saite selbst wird in Spiraltouren um die Spindel gewickelt; durch das Abziehen der Saite wird der Apparat in ähnlicher Weise wie die Kinderkreisel in Rotation versetzt, deren Tourenzahl im Anfange über dreitausend

Fig. 20.




*Centrifuge nach Gärtner.*

in der Minute beträgt und, allmälig abklingend, 10—15 Minuten andauert. Zum Absaugen der über dem Sediment stehenden Flüssigkeit bedient sich *Gärtner* einer kleinen Vorrichtung, die aus einem Kork und zwei Glasröhrchen besteht, welche in die Mündung der Eprouvetten eingeführt werden und diese so in eine kleine Spritzflasche verwandeln. Die Flüssigkeit wird durch Ausblasen entfernt und das Sediment bleibt am Boden zurück (Fig. 20).

*Csokor* hat bereits vor längerer Zeit eine grössere Centrifuge construiert, die sich durch ihren sicheren, vollständig gleichmässigen Gang auszeichnet, durch Wasser getrieben wird und über dreitausend Umdrehungen in der Minute macht.

# Nährmaterialien.

Um das Wachsthum der Mikroorganismen zu untersuchen, ist es unbedingt nöthig, sich eine Reihe von Nährböden zu verschaffen, in denen man die einzelnen Mikroorganismen zu grösseren Massen sich vermehren lässt, um ihre Eigenschaften genauer kennen zu lernen. Solche Nährböden sind theilweise derartig eingerichtet, dass sie sich mehr oder weniger dem Mutterboden der Mikroorganismen nähern, theilweise sind sie so hergestellt, dass sie den verschiedensten Formen als allgemeine Nährböden gelten können. Man unterscheidet im allgemeinen flüssige und feste Nährböden.

## Flüssige Nährböden.

Die flüssigen Nährböden treten in ihrem Gebrauche gegenüber den festeren mehr zurück, da die Wachsthumsverhältnisse und die charakteristischen Eigenthümlichkeiten in den Formen der Colonien weniger kräftig hervortreten, als dies bei den festen Nährböden geschieht.

Fig. 21.



*Erlenmeyer'sches Kölbchen.*

Die flüssigen Nährböden werden verwendet entweder in sterilisierten Eprouvetten, die mit einem Wattapfropf verschlossen sind oder in kleinen Kölbchen, von denen besonders die *Erlenmeyer*'schen Kölbchen zweckmässig sind (Fig. 21). Die in solchen kleineren Gefässen vertheilten flüssigen Nährböden, besonders Bouillon, müssen sorgfältig im strömenden Dampfe durch drei bis fünf aufeinander folgende Tage je 15 Minuten erwärmt werden, um keimfrei gemacht zu sein. Die Infection und das weitere Cultivieren der Mikroorganismen richtet sich nach der Art des betreffenden Organismus.

## Bereitung der Fleischbouillon.

Folgende Zusammenstellung gibt nach *Löffler* einen flüssigen Nährboden (Bouillon), dessen Verwendung eine allgemeine geworden ist: Vom Fett befreites Fleisch im Gewichte von einem halben Kilo

wird mit einer Fleischmaschine fein gehackt. Man kann ein solches Fleisch nicht als fettfrei im strengen Sinne des Wortes bezeichnen, da hierbei nur die Fettmassen abpräpariert sind, aber das Fett, das in jedem Fleische existiert, nicht entfernt ist. Ein Liter gewöhnlichen Wassers wird über das Fleisch gegossen und bleibt an einem kalten Orte durch 24 Stunden stehen. Es lösen sich hierbei die Eiweisskörper und die anderen in Wasser löslichen Stoffe des Fleisches auf, wodurch man ein zum grössten Theile durch Hämoglobin gefärbtes, wässeriges Extract erhält, das durch ein Tuch vom Rückstande abgepresst wird. Man erhält so eine Flüssigkeit von etwa einem Liter, die jetzt von den Eiweisskörpern befreit werden muss. Dies geschieht durch Erwärmen im Wasserbade oder im Dampfkochtopfe, was so lange anzuhalten hat, bis eine Probe des Filtrates beim Kochen keine Trübung mehr gibt; dies tritt meist schon nach halbstündigem Kochen ein. Es wird hierauf filtriert und zum Filtrate 1 Procent trockenes, farbstofffreies Pepton und 0·5 Procent Chlornatrium zugesetzt, was bei Anwendung eines Liters Wasser 10·0 Pepton und 5·0 Kochsalz gleichzustellen ist. Hierauf wird aufgekocht und die Lösung, die schwach sauer reagiert, durch eine vollständig gesättigte Natroncarbonatlösung neutralisiert. Es muss hierbei eine leichte Blaufärbung des Lakmuspapiers eintreten, die nachträglich in eine schwache Röthe übergeht. Die so zusammengesetzte Fleischbrühe wird noch einmal gekocht, nach dem Kochen abermals filtriert und darf sich weder beim Sterilisieren, noch beim Stehen trüben. Das Filtrat muss schwach gelb, klar und von neutraler oder schwach alkalischer Reaction sein. Trübungen sind entweder dadurch veranlasst, dass die Reaction stark alkalisch ist und werden dann durch eine Richtigstellung der Reaction beseitigt oder sie sind durch feinflockige Niederschläge von Albuminaten bedingt, die dadurch entfernt werden, dass ein Hühnereiweiss zugesetzt und durch eine Viertelstunde gekocht wird.

## Bereitung der Fleischextractbouillon.

Eine zweite Art einer Bouillon besteht darin, dass man Fleischextract und Zucker mit einander vereinigt, um einen flüssigen Nährboden zu gewinnen. Der Vorgang ist nach *Hueppe* folgender: Auf einen Liter Wasser kommen 1/2 Procent Fleischextract (5·0) und 3 Procent trockenes Pepton (30·0) oder auch statt des Fleischextractes und des Peptons 2—3 Procent Fleischpepton (20·0—30·0); dazu werden 5·0 Trauben- oder Rohzucker hinzugesetzt und die Flüssigkeit aufgekocht; hierauf wird sie durch eine Lösung von Natriumcarbonat sorgfältig neutralisiert und dann die Sterilisation durchgeführt. Zweckmässig ist auch der Zusatz von Glycerin zur Bouillon; auf dem dadurch gewonnenen Nährboden gedeihen die Tuberkelbacillen in vorzüglicher Weise.

## Eiweisslösungen.

Diesem flüssigen Nährboden fügen sich die Eiweisslösungen an, die durch die discontinuierliche Sterilisation vollständig keimfrei gemacht wurden; sehr gut eignet sich dazu das Eiweiss der

Kibitzeier, das klar und durchsichtig ist, das man behufs Verdünnung noch mit Wasser versetzen und filtrieren kann oder nach Bedarf mit Dextrin, Zucker oder anderen Bestandtheilen. Das sterilisierte Eiweiss liefert nun in Eprouvetten oder auf Glasplatten (in der feuchten Kammer) für längere Zeit einen passenden Nährboden.

## Feste Nährböden.

Durch die Einführung der festen Nährböden bei den bakteriologischen Untersuchungen wurde eine Reihe von Mikroorganismen genauer geprüft, und man konnte erfahren, dass gewisse Merkmale beim Wachsen und bei der Vermehrung der Elemente deutlicher hervortreten und dadurch die einzelnen Formen besonders charakterisieren.

## Bereitung der Fleischwasserpeptongelatine.

Die *Koch-Löffler*'sche Fleischwasserpeptongelatine ist die am meisten verwendete. Man stellt sie folgendermassen dar: 500 Grm. vom Fette befreites Fleisch wird fein gehackt, mit einem Liter Wasser versetzt und durch 24 Stunden stehen gelassen. Hierauf wird die Fleischmasse ausgepresst, das Filtrat im Wasserbade durch drei Viertelstunden gekocht, bis alle Eiweisskörper ausgefällt sind, und dann wieder filtriert. Man kann auch das mit einem Liter Wasser übergossene Fleisch sogleich kalt über das Feuer setzen, wobei zwischen Flamme und Topf eine Asbestplatte eingeschaltet werden muss; man lässt das Fleischwasser einige Stunden kochen, dann zur Abscheidung des Fettes erkalten und filtriert es; das verdampfte Wasser soll wieder ersetzt werden. Zum Filtrate werden 100 Grm. Gelatine, 10 Grm. farbstofffreies Pepton und 5 Grm. Kochsalz zugesetzt. Diese Mischung wird eine Zeit lang stehen gelassen und so lange im Wasserbade erhitzt, bis alle Gelatine gelöst ist. Damit die Gelatine farblos werde, darf die Lösung beim Erhitzen im Wasserbade nicht einkochen, sondern man muss gleich vom Anfange an soviel Wasser zugeben, als voraussichtlich verdampft. Die Gelatine besitzt stets eine saure Reaction; dasselbe gilt auch von der Fleischbrühe; sie muss nun durch eine concentrierte Lösung von Natriumcarbonat oder durch Natronlauge neutralisirt werden.

Hierauf wird die ganze Masse mittelst eines Heissfiltriertrichters durch ein Faltenfilter filtriert. Das Faltenfilter muss vor der Filtration mit warmem Wasser befeuchtet werden, weil sonst die Poren durch die erstarrende Gelatine verlegt werden. Um den Heisswassertrichter zu ersparen, lässt man nach *Kirchner* die Gelatine nach dem Ausdrehen der Flamme im Dampfkochtopfe langsam erkalten, dann ist sie nach einigen Stunden vollkommen klar und kann mit Leichtigkeit filtrirt werden. Statt des Faltenfilters kann man auch eine dünne Lage Watte oder Glaswolle zum Filtrieren verwenden.

Nimmt man eine Probe des Filtrates in eine Eprouvette und erhitzt bis zum Aufkochen, so muss sie klar bleiben und darf sich auch während des Erkaltens nicht trüben. Sollte sich aber die Gelatine

dennoch trüben, so ist dies dadurch möglich, dass vielleicht beim Neutralisieren die Gelatine zu stark alkalisch wurde, indem beim Erhitzen einer solchen Lösung die Kohlensäure ausgetrieben wird und dann Verbindungen ausfallen, welche die Trübung verursachen. Es ist selbstverständlich, dass man in solchen Fällen auf eine genaue Neutralisation Rücksicht zu nehmen hat, um eine brauchbare Gelatine zu bekommen. Dass etwa anderweitige Uebelstände, unbrauchbares Papier, unreine Gefässe etc. sich geltend machen können, ist selbstverständlich, und es muss dies bei der Herstellung des Nährbodens vermieden werden. Man kann die Trübung am leichtesten dadurch beseitigen, dass man zu der lauwarmen, noch flüssigen Gelatine das Weisse eines Hühnereies zusetzt und durch Schütteln in der Gelatine fein vertheilt. Hierauf wird die Lösung nochmals gekocht und im Heisswassertrichter filtriert. Man fügt regelmässig schon nach der Neutralisation das Weisse eines Eies zur Nährgelatine zu, um allen Uebelständen einer Trübung mit Sicherheit zu entgehen.

Die fertige Gelatine muss bernsteingelb und klar sein und darf sich beim Erhitzen nicht trüben. Man füllt sie zu 10 Ccm. in sorgfältig gereinigte, mit Wattapfröpfen verschlossene Eprouvetten oder in die *Schill*'schen Doppelreagensgläser (siehe pag. 12); um die leeren Eprouvetten zu sterilisieren, legt man sie in einem liegenden Drahtkorb übereinander, bringt sie mit dem Korbe in den Trockenschrank und setzt sie durch eine Stunde einer Temperatur von 100° aus.

Die Gelatine wird in die Eprouvetten mit Hilfe einer Pipette eingetragen, nur muss man dabei die Vorsicht beachten, dass die Gelatine nicht den Rand der Eprouvette verunreinigt, am allerwenigsten auf jenen Theil der inneren Oberfläche der Eprouvette kommt, der den Wattaverschluss trägt. Wenn man die Gelatine in die Eprouvetten einführt, so muss der Wattaverschluss an der Dorsalfläche der Hand zwischen zwei Fingern gefasst und unter drehender Bewegung aus der Eprouvette gehoben werden. Hierauf wird die gefüllte Pipette mit dem Zeigefinger verschlossen, der erst dann abgehoben wird, wenn die Gelatine in die Eprouvette ausrinnen soll. Bald nachdem dieses Verfahren einigemale wiederholt worden ist, erlangt man eine derartige Fertigkeit, dass jeder in seiner Weise so rasch als möglich eine Eprouvette mit Nährgelatine füllt und wieder rasch verschliesst.

Anstatt der Pipette, deren Benützung immerhin eine gewisse Fertigkeit verlangt, ist es zweckmässig, kleine Glastrichter zu verwenden oder an den Trichter, durch den die Gelatine filtriert wird, ein durch einen Hahn verschliessbares Glasrohr zu befestigen und das Glasrohr in die Eprouvette einzuführen.

Nun ist wohl zu achten, dass die Gelatine nicht anhaltend stark erhitzt werden darf, damit sie ihr Erstarrungsvermögen in der Kälte nicht verliert. Man muss daher in mehreren, ungefähr drei bis fünf aufeinander folgenden Tagen durch 10—15 Minuten im Dampfapparate erhitzen, um einen völlig keimfreien Nährboden in den Eprouvetten aufzubewahren, den man zum Gebrauche bei allen bakteriologischen Versuchen vorräthig halten soll.

## Bereitung der Fleischextractpeptongelatine.

Die *Hueppe*'sche Fleischextractpeptongelatine ist eine 10procentige Gelatinelösung, zu der 5 Grm. Fleischextract, 5 Grm. Traubenzucker und 30 Grm. Pepton hinzukommen. Sobald die Gelatine im Wasser gelöst ist, werden die übrigen Bestandtheile zugesetzt und aufgekocht. Hierauf wird mit Hilfe des Heissfiltriertrichters die Lösung abfiltriert und neutralisiert. Sollten etwa Trübungen entstehen, so haben jene Massregeln angewendet zu werden, die bei der Bereitung der Fleischwasserpeptongelatine erwähnt wurden. Durch das Sterilisieren, welches besonders vorsichtig durchgeführt werden muss, da im Fleischextract viele Keime enthalten sind, erhält man einen Nährboden, der in den meisten Fällen ebenso wie der frühere angewendet werden kann. Die fertige Gelatine ist in Folge der aus dem Fleischextract übergegangenen Farbstoffe bräunlich gefärbt.

Diese beiden Bereitungsmethoden liefern Gelatinen, welche die ausgedehnteste Verwendung bei allen bakteriologischen Untersuchungen haben. Durch verschiedene Zusätze versucht man nun den Nährboden zu ändern, indem man der Gelatine Traubenzucker (bis 2 Procent), Dextrin oder Glycerin (4—6 Procent) zusetzt. Durch diese verschiedenen Beimengungen soll die Gelatine einen erhöhten Nährwert für bestimmte Mikroorganismen erhalten.

Im Sommer hat die Gelatine die Neigung zur Verflüssigung; deshalb muss man statt der 10procentigen eine 15procentige Gelatine verwenden; zu Anaërobienculturen nimmt man eine $7^1/_2$procentige Gelatine.

## Zusätze zur Nährgelatine.

Eine besondere Beachtung verdient die Lakmusgelatine, die dadurch hergestellt wird, dass man eine blaue Lakmuslösung von ziemlicher Concentration der Gelatine beimengt und dadurch die sogenannte Lakmusgelatine gewinnt, deren Bedeutung darin besteht, dass man die Säure- oder Alkalienbildung, welche beim Wachsthum der Mikroorganismen auftritt, qualitativ nachweisen kann.

Es ist zu empfehlen, die Gelatine mit den verschiedensten Zusätzen zu versehen, um den jedesmaligen Bedürfnissen bei der Cultur von Mikroorganismen zu entsprechen. Es sind deshalb von bewährten Forschern die mannigfaltigsten Beimengungen empfohlen worden; so hat *Koch* Mischungen der Gelatine mit Blutserum, mit Humor aqueus, mit Heuinfus, Weizeninfus, Pferdemistdecoct und Pflaumendecoct verwendet.

*Miquel* benützt an Stelle der Fleischbrühe eine Lösung von 40 Theilen Pepton, 10 Theilen Kochsalz und 1 Theil Kaliumcarbonat, zu der man noch 4 Theile Gelatine setzen kann.

Zur Züchtung der Typhusbacillen hat *Holz* eine Kartoffelgelatine angegeben. Die Kartoffeln werden zerrieben und durch ein Seihtuch gepresst; das abfliessende Kartoffelwasser wird 24 Stunden stehen gelassen und mit 10procentiger Gelatine gekocht.

## Bereitung der Harngelatine.

Eine sehr billige und sehr leicht herstellbare Gelatine ist die von *Heller* empfohlene Harngelatine. Man fängt Harn in sterilisierten Gefässen auf, bringt sein specifisches Gewicht durch Verdünnen mit sterilisiertem Wasser auf 1010, macht den Harn durch Sodalösung schwach alkalisch und filtriert. Dann setzt man 1 Procent Pepton, 1/2 Procent Kochsalz und 5 bis 10 Procent Gelatine zu, kocht, filtriert, füllt die so gewonnene Flüssigkeit in Reagensgläser und sterilisiert; eine einmalige Sterilisation soll genügen. Man kann dieses Verfahren noch dahin modificieren, dass der Harn vor dem Verdünnen mit Wasser durch Thierkohle filtriert wird, um einen Theil der Harnfarbstoffe auszufällen.

## Bereitung des Nähragars.

Das Agar-Agar ist eine von verschiedenen Florideen Ostindiens und Japans stammende Pflanzengallerte, die in die Bakteriologie von *Hesse* eingeführt wurde, weil sie sich dadurch auszeichnet, dass sie bei 40° C. noch im festen Zustande verharrt und erst bei 90° vollständig schmilzt. Hierdurch ist diese Pflanzengallerte sehr geeignet, als Nährboden für jene Mikroorganismen verwendet zu werden, die bei einer höheren Temperatur im Wärmeschranke gezüchtet werden sollen. Das Agar-Agar erscheint im Handel in Form von durchsichtigen Streifen oder in vierkantigen Stücken oder als weisses Pulver und quillt im Wasser auf.

## Bereitung des Fleischwasserpeptonagars.

Zur Darstellung des Nähragars (Fleischwasserpeptonagar) nimmt man 500 Grm. vom Fette befreites Fleisch, das zerhackt und mit einem Liter Wasser versetzt wird. Nach 24stündigem Stehen an einem kühlen Orte wird durch ein Tuch filtriert und die Flüssigkeit von der Fleischmasse abgepresst. Durch das Kochen dieses Fleischwassers werden die Eiweisskörper ausgefällt und werden durch Filtrierung aus der Flüssigkeit entfernt; dadurch entsteht die gewöhnliche Nährbouillon. Diese wird durch doppeltkohlensaures Natron schwach alkalisch gemacht und mit 10 Grm. Pepton, 5 Grm. Kochsalz und 20 Grm. klein zerschnittenem Agar-Agar versetzt. Das Agar quillt in der Bouillon auf und wird dann so lange auf dem Sandbade oder im Dampftopf oder auch über der freien Flamme gekocht, bis nur noch kleine Flöckchen und schwache Trübungen wahrgenommen werden. Die verdampfende Flüssigkeit wird durch Nachgiessen ersetzt. Es ist selten nöthig, die Flüssigkeit ein zweitesmal durch Natriumbicarbonat zu neutralisieren, da das Agar an und für sich neutral reagiert. Man hat nur die Agarlösung zu filtrieren, was unter Umständen schwer gelingt. Man filtriert durch eine doppelte Lage Filtrierpapier mittelst des Heissfiltriertrichters oder im Dampfkochtopf. Das Filtrieren geht äusserst langsam vor sich. Nach Zusatz von Eiweiss geschieht es zuweilen, dass nach dem Kochen der Agarmasse die kleinen Theilchen durch das Eiweiss zusammengeballt werden und die Filtration um Vieles leichter erfolgt.

Einige empfehlen, die heisse Agarlösung in einem hohen Cylindergefässe im Dampfkochtopfe allmälig abkühlen zu lassen, wobei sich die Trübungen zu Boden senken, so dass die erstarrte Agarmasse in den oberen Partien vollständig klar ist. Nach leichtem Erwärmen wird diese Masse aus dem Glase entfernt und durch einen Messerschnitt die klare von der trüben Masse getrennt. Die klare Masse wird zerkleinert und wieder geschmolzen.

Um die Bereitung des Nähragars zu vereinfachen, empfiehlt es sich, die kleingeschnittenen Agarstücke über freiem Feuer, mit Einschiebung einer Asbestplatte zwischen Flamme und Topf in siedendem Wasser zu lösen, was in zwei bis drei Viertelstunden geschieht und dann erst die Flüssigkeit dem Fleischwasser zuzusetzen. Auch hier ist es zweckmässig, die Flüssigkeit nicht zu lange zu erhitzen, weil durch das Einkochen der Nährboden dunkel wird, sondern von Anfang an soviel mehr Wasser zuzufügen, als durch das Abdampfen verloren gehen dürfte. Um eine klare Lösung zu erhalten, legt man die Agarstücke vorerst in eine zweiprocentige Salzsäure oder in fünfprocentige Essigsäure, die durch Abspülen mit Wasser entfernt werden. Nach *Richter* löst man das Agar in Wein durch zweistündiges Macerieren und nachfolgendes Erhitzen auf und setzt die Lösung zu einer Fleischbrühe hinzu.

*Tischutkin* lässt die nöthige Menge Agar in einer sehr verdünnten Lösung von Essigsäure durch 15 Minuten aufquellen, wäscht es in reinem Wasser und gibt es darauf in die Bouillon, in der es sich schon nach einem Kochen von 3—5 Minuten auflöst. Nach Neutralisierung und Abkühlung wird das Eiweiss von zwei Hühnereiern zugegossen und die Mischung durch eine halbe bis dreiviertel Stunden im Dampfapparat gehalten; die Filtrierung erfolgt dann in kurzer Zeit auch ohne Heisswassertrichter.

Das fertige Nähragar wird in sterilisierte, mit Wattapfröpfen verschlossene Proberöhrchen gefüllt, so dass ungefähr der dritte Theil der Proberöhre Flüssigkeit enthält. Es muss nun dafür gesorgt werden, dass die Nährmasse sterilisiert werde, was durch eine 20 Minuten dauernde, an drei auf einander folgenden Tagen ausgeführte Erhitzung der gefüllten Reagensgläser im Dampfkochtopf erfolgt.

Die gefüllten und sterilisierten Röhrchen werden schief gestellt, wozu passende Vorrichtungen verschiedener Art verwendet werden. Nach dem Erstarren bildet die Oberfläche des Agars mit der Längsachse des Gläschens einen sehr spitzen Winkel. Es scheidet sich hierbei etwas Wasser aus (Condensationswasser), welches das feste Anhaften des Agars an dem Gefässe verhindert, weshalb sich häufig beim Schwenken der Eprouvette der Nährboden dreht. Erst nach dem Verdunsten des Condensationswassers schwindet diese Erscheinung. Um das Abgleiten von der Glasfläche zu verhindern, empfiehlt sich nach *Esmarch* der Zusatz von etwas arabischem Gummi.

Die flüssige Agarmasse ist klar und durchsichtig, nach dem Erstarren etwas trübe und opak.

Oft wird das Nähragar derart bereitet, dass zu einem Liter Wasser 20 Grm. Agar, 5 Grm. Fleischextract, 5 Grm. Traubenzucker

und 30 Grm. Pepton hinzugegeben werden. Die Sterilisation muss sorgfältiger durchgeführt werden, als bei dem gewöhnlichen Nähragar. Der fertige Nährboden besitzt eine bräunlichgelbe Farbe.

Durch Zusatz von Lakmuslösung, Traubenzucker und anderen im Wasser löslichen Substanzen kann man den Nähragar in der verschiedensten Weise modificieren. Am meisten benützt wird die Lakmusagarmasse, indem man zu einem Liter des fertigen Agars 40 Ccm. Lakmuslösung hinzusetzt. Dieser Nährboden dient vorzugsweise dazu, um Studien über Säure- oder Alkalibildung bei der Bildung der Mikroorganismen anzustellen.

## Modificationen der Gelatine und des Agars.

Häufig wird das Glycerinagar gebraucht, da manche Mikroorganismen besonders leicht auf diesem Nährboden gedeihen. Es wird das Nähragar dadurch geändert, dass man ungefähr 6 Procent reines, neutrales Glycerin zusetzt. In neuerer Zeit wurde von *Nocard* und *Roux* gezeigt, dass die Tuberkelbacillen und die Rotzbacillen auf diesem Nährboden sehr leicht fortkommen.

Sowohl die Nährgelatine als das Nähragar werden nach *Kowalski* in folgender Weise bereitet: Statt des Fleisches wird zur Bereitung der Bouillon 1 Kgrm. Kalbslunge verwendet; man zerkleinert sie, übergiesst sie mit 2 Liter Wasser, lässt die Flüssigkeit in einem kalten Raume durch einige Zeit stehen und presst nach dem Aufkochen aus. Zu dem daraus gewonnenen Filtrate werden 25 Grm. Pepton, 90 Grm. Zucker, 18 Grm. Kochsalz, 9 Grm. phosphorsaures Kali, 9 Grm. schwefelsaures Ammoniak und 25 Grm. schwefelsaures Natron zugesetzt. Nachdem alle diese Bestandtheile gelöst sind, werden 10—15 Procent Gelatine oder 2 Procent Agar-Agar beigefügt und die ganze Masse unter stetem Rühren aufgekocht. Nach dem Abkühlen der noch nicht flüssig gewordenen Masse wird ihr das Weisse von fünf Hühnereiern zugesetzt und in der Flüssigkeit vertheilt. Nach abermaligem Aufkochen, bis alles Eiweiss geronnen ist, werden 8—10 Procent Glycerin zugegeben. Dieser Nährboden ist im klaren Zustande strohgelb, wird mittelst einer Pipette in Proberöhren gefüllt und im Dampftopf an drei auf einander folgenden Tagen durch 10 Minuten sterilisiert. *Kowalski* hat mit diesem Nährboden sehr günstige Resultate erzielt.

Die von *Heller* angegebene Methode zur Bereitung der Harngelatine kann auch zur Darstellung des Harnagars verwendet werden; man folgt dem angegebenen Verfahren und setzt statt Gelatine 1—2 Procent Agar zu.

Sowohl die Gelatine, als auch die Agarnährböden können nach *Marie Raskin* mit Milch oder Casein bereitet werden; als Zusatz kann auch Pepton, sowie Natron- und Kalialbuminat verwendet werden.

*Miquel* hat eine Nährgelatine angegeben, die er aus irischem Moos (Carragheen, Fucus crispus) bereitet und durch Kochen von 300—400 Grm. dieses Mooses mit 10 Liter Wasser gewinnt. Das Filtrat wird eingedampft und bei 40—45° C. getrocknet. Wenn man 1 Procent von diesem Extracte einer Bouillon zusetzt,

so bekommt man einen festen Nährboden, der erst bei 50° C. flüssig zu werden beginnt.

Ausser den angeführten Modificationen der Nährbouillon, Nährgelatine und des Nähragars sind noch zahlreiche andere Aenderungen und Zusätze angegeben worden, deren Verwendung aber sehr beschränkt ist.

## Blutserum.

Die Verwendung des Blutserums als Nährboden wurde von *Koch* in die bakteriologische Technik eingeführt. Man lässt das Blut aus der Stich- oder Schnittwunde in einen sterilisierten, hohen Glascylinder strömen. Hierauf wird es an einem ruhigen Ort in einen Eisschrank auf 48 Stunden gestellt. Es scheidet sich hierbei das Serum ab, das gelblich oder sehr schwach röthlich gefärbt sein soll. Mit Hilfe einer sterilisierten Pipette wird es in sterilisierte, mit Watta verschlossene Eprouvetten gegossen, so dass sich etwa 10 Ccm.

Fig. 22.



*Apparat zum Erstarren des Blutserums.*

Blutserum in jeder Eprouvette befinden. Das flüssige Serum wird eine Woche lang täglich zwei Stunden einer Temperatur von 56° ausgesetzt und durch diese fractionierte Sterilisation keimfrei gemacht. Um auch jene Mikroorganismen zu tödten, die noch bei höherer Temperatur gedeihen, wird das Blutserum mit Chloroform im Uebermasse geschüttelt und einige Tage stehen gelassen. Vor dem Gebrauche wird das Chloroform durch Erhitzen entfernt. Hierauf werden die Eprouvetten auf eine schiefe Ebene gelegt und das Serum bei einer Temperatur von 70° C. zur Erstarrung gebracht. Nach dem Erstarren soll das Blutserum eine gallertige Consistenz und eine gelbliche Farbe besitzen, dabei aber in seiner ganzen Ausbreitung als eine transparente Masse der Eprouvette anhaften. Zum Erstarren des Blutserums hat *Koch* einen eigenen Apparat angegeben, in dem das Wasser etwa eine halbe Stunde lang vorsichtig auf 68—70° C. erhitzt wird (Fig. 22). Bei höherer Temperatur wird das

Serum undurchsichtig. Vor dem Gebrauche muss man sich überzeugen, ob das Blutserum keimfrei ist; dies geschieht am zweckmässigsten dadurch, dass man die Eprouvetten mit einem Gummikäppchen bedeckt und für einige Tage in dem Wärmeschrank stehen lässt. Es dürfen nur diejenigen Eprouvetten benützt werden, in denen keine sichtbaren Keime von Mikroorganismen zur Entwicklung gekommen sind.

Vielfach steht auch menschliches Blutserum in Verwendung, das man sich theils bei Operationen, theils aus Placenten verschaffen kann.

## Modificationen des Blutserums.

Sehr nahe stehen dem Blutserum des Menschen jene Flüssigkeiten, die aus Hydrokelen, aus Ovarialcysten oder aus hydropischen Ergüssen stammen. Das Verfahren zur Herstellung der Nährböden aus diesen Flüssigkeiten ist ähnlich der Herstellung des Blutserums.

*Löffler* modificierte das Blutserum dadurch, dass er ein wässeriges Extract aus dem Fleische von den Eiweisskörpern befreite und ihm 1 Procent Pepton, 1 Procent Traubenzucker und 0·5 Procent Kochsalz hinzufügte. Diese Lösung, die sauer reagiert, wird durch Natriumbicarbonat neutralisiert. Im Dampftopfe wird sie nun sterilisiert und nachdem die Flüssigkeit abgekühlt ist, mit flüssigem Blutserum vermischt, so dass auf drei Theile Blutserum ein Theil des Fleischwassers kommt. Nach einer discontinuierlichen Sterilisation der mit der Mischung gefüllten Eprouvette wird die Masse bei 70° zur Erstarrung gebracht.

Es werden auch Beimengungen von 6—8 Procent Glycerin zum Blutserum empfohlen, ebenso wird nach *Hüppe* Blutserum mit concentrierter Gelatinelösung als Blutserumgelatine oder mit 2procentiger Agarlösung als Blutserumagar hergestellt, wodurch man Nährböden erhält, die durch die fractionierte Sterilisation keimfrei gemacht werden; diese Nährböden werden in neuerer Zeit ziemlich stark verwendet.

## Vogeleier.

Bekanntlich gerinnt Hühnereiweiss mit einer concentrierten Kalilösung vermischt und aus einem Gefässe in ein anderes gegossen, bald zu einer festeren Gallerte (*Lieberkühn*'sches Kalialbuminat).

*Tarchanoff* und *Kolesnikoff* haben nun, gestützt auf diese Erfahrung, ein festes Alkalialbuminat als Nährboden verwendet, das in folgender Weise bereitet wird: In eine 5—10procentige Kalilösung werden Hühnereier mit der Schale für ungefähr 14 Tage eingelegt. Das Eiweiss wird hierbei gelatineartig fest, indem sich wahrscheinlich das Eiweiss mit dem Kali durch die Poren der Kalkschale und der Schalenhaut langsamer zu einer gallertigen Masse verbindet, als dies bei der Bereitung des *Lieberkühn*'schen Kalialbuminates geschieht. Wird diese gallertige, schwach gelbliche Eiweissmasse in feine Lamellen geschnitten und die hohe Alkalescenz

durch Auswaschen beseitigt, so erhält man einen sehr brauchbaren Nährboden. Es ist selbstverständlich, dass man hierbei auf die Sterilisation, die im Dampfkochtopfe geschehen kann, genügende Rücksicht zu nehmen hat.

## Kibitzeiweiss.

Ein geeigneter Eiweissnährboden, der wegen seiner hohen Transparenz und der Farblosigkeit zu empfehlen ist, ist das Eiweiss der Eier der Nesthocker bis zu der Zeit, wo der Embryo seinen Bluthof entwickelt hat. Dieser Nährboden wurde in meinem Institute eingeführt und vielfach verwendet. Wir wählten hierzu das Eiweiss der Kibitzeier, weil diese im Frühlinge leicht käuflich sind. Wenn man ein mit Sublimatlösung gereinigtes Kibitzei eröffnet, so findet man um die Dotterhaut herum eine dichtere Eiweissmasse, während nach aussen das Eiweiss klarer und weniger dicht ist. Füllt man diese äussere Eiweissmasse in schmale Eprouvetten und legt diese schief, so erhält man bei einer Temperatur, bei der das Eiweiss gerinnt, eine klare, gelatinöse, durchsichtige Masse, welche für die verschiedensten Culturen brauchbar ist.

So gedeihen auch, wie *v. Schrötter* und *F. Winkler* in meinem Institute nachgewiesen haben, Gonokokken auf Kibitzeiweiss.

Besonders schön entwickeln sich auf Kibitzeiweiss die farbstofferzeugenden Mikroorganismen.

Man kann dieser Eiweissmasse verschiedene andere Substanzen, Traubenzucker, Dextrin, Kleister, überhaupt in Wasser lösliche Substanzen, die nicht sauer reagieren, hinzufügen, um den Nährboden verschiedenartig zu modificieren. Auch aus der mit Wasser verdünnten concentrierten Eiweissmasse kann man den Nährboden herstellen; nur muss das Eiweiss früher filtriert werden.

Wenn auch die Untersuchungen zeigen, dass im normalen, unbefruchteten Ei der Kibitzeier keine Mikroorganismen nachweisbar sind, so ist es doch zweckmässig, die gefüllten Eprouvetten vor dem Gebrauche einer fractionierten Sterilisation zu unterziehen.

Zu Plattenculturen ist das Kibitzeiweiss auch verwendbar, nur muss es nach sorgfältiger Sterilisation unter einem sterilisierten Recipienten einer Luftpumpe über Schwefelsäure auf einer sterilisierten Glasplatte getrocknet und dann nach der Infection in der feuchten Kammer erhalten werden.

Das Plattenverfahren kann dadurch erleichtert werden, dass man das Kibitzeiweiss mit Gelatine oder mit Agar mischt.

## Hühnereier.

Nach *Hüppe* und *Heim* kann man in vortheilhafter Weise die Hühnereier selbst als Nährboden verwenden. Man reinigt frische Eier in Sodalösung, wäscht sie und legt sie in Sublimat. Vor der Inficierung muss das Sublimat durch Schwefelammonium, Spiritus und Aether entfernt werden; man sticht an der Spitze des Eies mit einer ausgeglühten Nadel ein und bringt das Impfmaterial mittelst einer Glascapillare in das Innere des Eis, indem man sie während

des Zurückziehens sorgfältig ausbläst. Der Verschluss erfolgt durch sterilisierte Watta oder Collodium. Besonders geeignet ist diese Art der Züchtung für anaërobe Culturen.

## Kartoffeln.

Ein vorzüglicher Nährboden für die verschiedenen Mikroorganismen, der sie sogar in ganz charakteristischer Weise zur Entwicklung bringt, ist die Kartoffel. Man bereitet diesen Nährboden nach *Koch* in folgender Weise: Die Kartoffeln werden sorgfältig mit einer Bürste in Wasser gereinigt. Nachdem sie vom Schmutze befreit sind, werden sie in eine 1 pro Mille, mit $^1/_2$procentiger Salzsäure versetzte Sublimatlösung für eine halbe Stunde gelegt und mit Wasser abgespült, so dass sie von dem anhaftenden Sublimate befreit sind. Die einzelnen Faulflecke und Augen der Kartoffeloberfläche werden mit einem sterilisierten Messer entfernt. Hierauf werden die Kartoffeln im Dampfapparate etwa eine Stunde gekocht und dann mit einem sterilisierten Messer in zwei Hälften geschnitten; jede der Hälften kann auf der freiliegenden Schnittfläche zur Cultur der Mikroorganismen verwendet werden. Will man sich überzeugen, ob die Kartoffeln vollständig sterilisiert sind, so kann man mehrere so behandelte Kartoffeln in feuchten Kammern liegen lassen und abwarten, ob sich Mikroorganismen entwickeln; in diesem Falle muss man das Sterilisationsverfahren im Kochtopfe wiederholen.

Schneidet man die Kartoffeln, nachdem sie in Wasser gewaschen, mit Sublimat desinficiert und an der Oberfläche sorgfältig gereinigt sind, in einige dickere Scheiben, die in kleine, sterilisierte Glasdosen hineinpassen, so bildet jede Scheibe für sich einen Boden zur Cultur, nur müssen die einzelnen Scheiben (*Esmarch*'sche Kartoffelscheiben) an drei bis fünf auf einander folgenden Tagen im Kochtopfe sterilisiert werden. Sie können auch in mehreren über einander stehenden Glasschälchen, die sich gegenseitig überdecken und verschliessen, vorräthig gehalten werden.

Um Kartoffeln in durchscheinender Form zu verwenden, kann man nach *Wood* aus recht weissen Kartoffeln feine Scheiben schneiden, welche auf sterilisierte Glasstreifen fest angedrückt, mit diesen in Reagensgläser eingebracht und dann sterilisiert werden.

Statt der Kartoffelscheiben werden mit Hilfe eines Korkbohrers aus den gereinigten und geschälten Kartoffeln Cylinder ausgestochen. Jeder Cylinder kann in der Längsachse in zwei Hälften zerlegt und jede derselben in eine sterilisierte, mit Watta verschlossene Proberöhre gelegt werden. Nachdem diese Eprouvetten im Dampfapparate an drei aufeinander folgenden Tagen sterilisiert wurden, wird die Oberfläche der Kartoffelscheibe inficiert.

Zweckmässig werden die Kartoffelcylinder auf Watta oder Glasröhrchen gestellt, welche das Condensationswasser aufnehmen.

Die Kartoffeln werden häufig nach dem Schälen und Kochen zerrieben und in kleine *Erlenmeyer*'sche Kölbchen gepresst (Kartoffelbrei); nach der richtigen Sterilisation gewinnt man auf diese Weise einen verwendbaren Nährboden, der nach *Eisenberg* dadurch modificiert wird, dass man statt der Kölbchen kleine, mit

einem Glasdeckel verschliessbare Dosen verwendet und für Dauerculturen mittelst Paraffins verschliesst.

Der Kartoffelnährboden besitzt eine leicht saure Reaction. Für gewisse Mikroorganismen, zu deren Züchtung eine alkalische Reaction nöthig ist, muss die Kartoffeloberfläche durch eine Lösung von Natriumbicarbonat alkalisch gemacht werden.

## Reis, Brot, Oblaten.

Der Milchreis wird in der Weise bereitet, dass man in eine abgerahmte Milch die zweieinhalbfache Menge Reispulver einträgt. Dieses Gemenge wird so lange gekocht, bis man einen dicken Brei erhält, der schwach abgekühlt und in einen Korkbohrer eingebracht wird, so dass keine Lufträume zurückbleiben. Hierauf wird der Brei mittelst eines Stempels ausgestossen und mittelst eines Platindrahtes in einzelne Scheiben zertheilt. Die Scheiben werden in Glasdosen gelegt, mit einigen Tropfen Milch befeuchtet, sterilisiert und dienen als Nährboden, auf dem die verschiedensten Mikroorganismen, insbesondere die farbstoffproducierenden, in charakteristischer Weise gedeihen.

Der Milchreis wurde von *Eisenberg* in folgender Weise modificiert: 100 Grm. Reispulver, 70 Grm. Bouillon und 210 Grm. Milch werden verrieben und in Glasdosen eingetragen. Man erhitzt die Masse auf dem Wasserbade so lange, bis sie erstarrt. Werden die Glasdosen verschlossen und an drei auf einander folgenden Tagen im Dampfkochtopfe sterilisiert, so erhält man einen Nährboden von milchkaffeeähnlicher Farbe, auf dessen glatter Oberfläche die Mikroorganismen durch Impfung aufgetragen werden können.

Der Brotbrei wird folgendermassen dargestellt: Das Brot wird getrocknet, bis es ziemlich wasserfrei ist; dann wird es zerrieben und auf dem Boden eines Kölbchens vertheilt, so dass es dessen Boden bedeckt. Durch Zusatz von Wasser wird ein Brei gebildet, der nach einmaligem Aufkochen, ohne neutralisiert worden zu sein, einen vorzüglichen Nährboden für Schimmelpilze gibt. Besonders schön entwickelt sich auf ihm der Aspergillus niger. Nach der Neutralisation durch kohlensaures Natron bildet der Brei, nachdem er im Dampftopfe mehrmals sterilisiert wurde, einen Nährboden für verschiedene Spaltpilze.

Die Oblaten, besonders jene grösserer Dicke, wählt man nach *Schill* für chromogene Bakterien; sie werden mit Bouillon befeuchtet, in Glasdosen gelegt und sterilisiert.

# Züchtungsmethoden.

Die Gelatine, auf Objectträgern ausgebreitet, wurde wiederholt verwendet, um die Mikroorganismen an verschiedenen Stellen aus der Luft aufzufangen oder es wurde ein Impfstrich auf der Oberfläche gezogen. Diese Objectträgerculturen werden gegenwärtig weniger gebraucht; es ist nämlich zur Isolierung der Keime nothwendig, dem Nährboden eine grosse Oberfläche zu geben; dazu dienen Glasplatten. *Koch* hat nun eine äusserst ingeniöse Methode ersonnen, welche unter dem Namen des Plattenverfahrens bekannt ist.

## Koch'sches Plattenverfahren.

Die Gelatine wird in Quantitäten von ungefähr 10 Ccm. in sterilisierten und mit Watta verschlossenen Proberöhren aufbewahrt und durch eine fractionierte Sterilisation vollständig keimfrei gemacht. Hat man irgend eine Reincultur oder ein Gemenge von vielen Mikroorganismen in einer beliebigen Masse enthalten, so verflüssigt man drei Proberöhren mit Gelatine im Wasserbade bei einer Temperatur von 35°, nimmt mit einer in der Glühhitze sterilisierten Platinnadel eine geringe Menge der zu untersuchenden Masse auf und trägt sie in die erste Eprouvette ein. Die Platinnadel kann am Ende zu einer kreisförmigen Oese umgebogen oder auch an der Spitze etwas plattgedrückt werden. Wenn die Masse etwas cohärenter ist, so sucht man mit der Spitze der Platinnadel die Mikroorganismen durch Reiben an der Wand der Proberöhre innerhalb der Gelatine zu vertheilen. Aus der ersten Eprouvette überträgt man mit der geglühten Platinnadel drei Proben in die zweite und aus der zweiten in die dritte Eprouvette. Wir haben so drei Impfungen, von denen die dritte am meisten verdünnt ist. Bei dem Impfen ist zu berücksichtigen, dass die Wattapfröpfe beim Eröffnen der Eprouvette zwischen den Fingern an der Dorsalseite der Hand, am besten zwischen drittem und viertem Finger, gefasst und aus der Eprouvette herausgedreht werden; nach der Impfung muss wieder sorgfältig verschlossen werden, ohne dass der Wattapfropf mit der Handfläche oder mit einem Instrumente in Berührung kommt.

Während dieser Proceduren müssen einige Platten im Trockenschranke bei einer Temperatur von 130° sterilisiert werden, zweck-

mässig in einer Eisenblechbüchse, welche auch eine grössere Anzahl von Platten aufzunehmen vermag (Fig. 23). Man nimmt nun nach dem Abkühlen drei Platten, die man nur an den Kanten fassen darf, aus der Büchse heraus und legt sie nacheinander auf den *Koch*'schen Plattengiessapparat, auf dem sie unter einer Glocke abgekühlt werden. Bei Mangel eines Trockenschrankes kann man die Platten in einer Ofenröhre oder in der Gas- oder Spiritusflamme, indem man sie mit den Fingern an den Kanten hält und beiderseits über der Flamme erhitzt, sterilisieren.

Der Giessapparat besteht aus einer Triangel, deren Füsse von Stellschrauben gebildet werden; auf dieser liegt ein mit einer dicken Glasplatte verschlossenes Glasgefäss, das vor dem Gebrauche mit Eiswasser gefüllt wird. Der Apparat wird mit Hilfe einer Libelle horizontal eingestellt und mit einer Glasglocke bedeckt. Unter dieser Glocke wird die sterilisierte Platte abgekühlt; dann wird die erste der geimpften Proberöhren nach Entfernung des Wattapfropfes am oberen Rande erwärmt, um den Theil zu sterilisieren, über den die Gelatine zu fliessen hat, und der Inhalt der Eprouvette aus geringer Höhe auf die Platte derart ausgegossen, dass die Gelatine in nicht zu

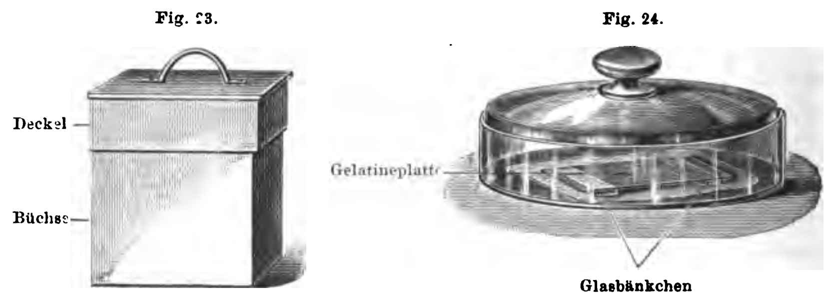



Fig. 23. *Eisenblechbüchse zur Aufnahme der Platten.*

Fig. 24.

dicker Schichte sich auf der Platte ausbreitet. Nach kurzer Zeit erstarrt die Gelatine unter der Glocke und wird in die feuchte Kammer eingetragen und entweder auf Glasbänkchen oder Glasklötzchen, die sterilisiert sind, gelegt. Dasselbe Verfahren wird bei der zweiten und bei der dritten Impfprobe durchgeführt und es können die drei Platten auf Bänkchen in eine einzige Feuchtkammer übereinander gelegt werden, oder es wird für jede Platte eine eigene feuchte Kammer bestimmt.

Die feuchte Kammer besteht in einer geräumigen Glasdose, die durch 1promillige Sublimatlösung desinficiert wird; auf den Boden wird ein kreisförmiges, mit 1 pro Mille Sublimatlösung befeuchtetes Stück Fliesspapier gelegt (Fig. 24).

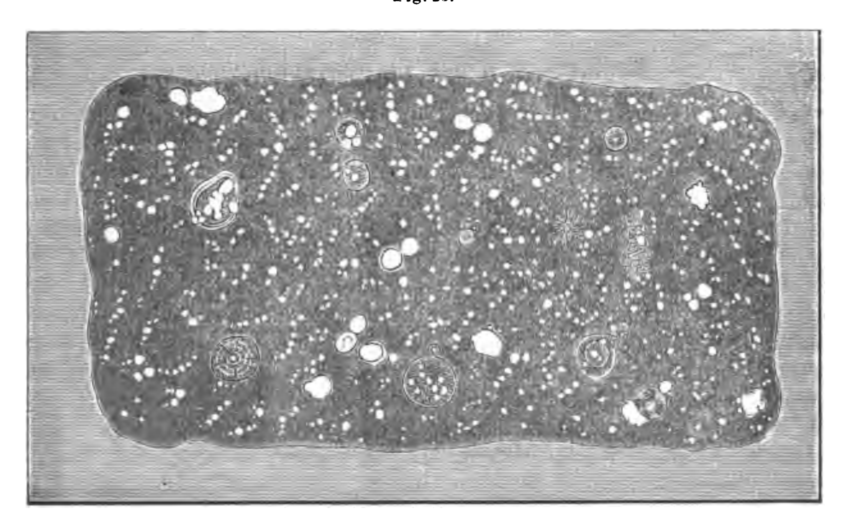
Die so hergerichteten Platten werden bei Zimmertemperatur belassen, bis sich an ihnen die einzelnen Culturen auf der Oberfläche zeigen. Diese erscheinen in Form von Inseln, entweder dicht an einander liegend oder isoliert; zuweilen confluieren mehrere mit einander; mitunter erscheint auf der Platte eine punktierte Masse, nicht selten in Form von Wölkchen, die alle je nach der Art der Mikro-

organismen verschieden gestaltet sind. Bei stärkerer Vergrösserung erscheinen die Inseln scharf begrenzt, bald körnig, bald faserig, je nach der Art und Weise, wie die Mikroorganismen an einander gelagert sind. Hat man es mit farbigen Mikroorganismen zu thun, so werden die einzelnen Inseln verschiedenartig gefärbt erscheinen, oder es durchzieht die Farbe die Gelatine diffus; sie kann an einzelnen Stellen phosphorescieren oder auch fluorescieren.

Durch die Zusammenstellung aller dieser Eigenheiten ist man im Stande, die Mikroorganismen zu specialisieren und zu erkennen. Hierzu kommt, dass manche Mikroorganismen die erstarrte Gelatine verflüssigen, während andere die Consistenz der Gelatine unverändert lassen (Fig. 25).

Am meisten isoliert erscheinen die Inseln der Mikroorganismen auf der verdünntesten Cultur.

Fig. 25.



*Gelatineplatte mit verschiedenen Inseln.*

Will man nun von einer solchen Platte weitere Culturen erhalten, so schlägt man folgenden Weg ein: Mit der Spitze der ausgeglühten, in einen Glasstab eingeschmolzenen Platinnadel wird von einer Insel eine Probe genommen, oder es wird die ganze Insel auf die Spitze gebracht und damit ein Stich in die sterilisierte Gelatine der Eprouvette gemacht, oder es wird ein Strich über die schiefe Oberfläche der erstarrten Agarmasse gezogen oder sterilisierte Kartoffeln damit inficiert. Eine derartige Uebertragung auf verschiedene Nährböden ermöglicht uns, alle Eigenthümlichkeiten im Wachsthume zu verzeichnen und daraus eine Vorstellung zu gewinnen, in welche Reihe der betreffende Mikroorganismus zu zählen ist.

Diese Procedur wird bei schwacher Vergrösserung durchgeführt und als „Fischen" bezeichnet. Es bedarf dazu einer gewissen Fertigkeit; es sind deshalb in jüngster Zeit von *Unna, Fodor* u. a. Vorrichtungen angegeben worden, welche das Fischen erleichtern.

## Rollculturen.

*v. Esmarch* gab eine Modification des Plattenverfahrens an, bei der die flüssig gemachte und geimpfte Gelatine in einer weiten Eprouvette so lange gerollt wird, bis die Gelatine erstarrt ist (Rollculturen).

Die Rollculturen werden in der Weise hergestellt, dass man das Röhrchen in der gewöhnlichen Weise impft, den Wattapfropf in der Flamme abbrennt, das Röhrchen damit verschliesst und eine in Sublimatlösung sterilisierte Gummmikappe darüber zieht. Darauf wird das Röhrchen an dem oberen Ende mit drei Fingern der rechten und am unteren Ende mit drei Fingern der linken Hand gefasst, horizontal in eine Eiswasserschale gelegt und so lange um seine Längsachse gerollt, bis die Gelatine zu einer gleichmässig dicken Schichte erstarrt ist. Die fertigen Rollculturen müssen sofort in einen kühlen Raum gebracht werden.

## Modificationen des Plattenverfahrens.

Ein rascheres und bequemeres Verfahren ist das Eintragen von Gelatinemassen in die *Petri*'schen Dosen. Bei der Verwendung der *Soyka*'schen Platten wird in jede Vertiefung eine kleine Menge der verflüssigten Gelatine gebracht und durch die Platinnadel mit dem Infectionsstoffe beschickt; die Uebertragung des Materiales aus einer Vertiefung in die andere ermöglicht es, auf einer Platte alle Verdünnungen zu haben.

*Günther* bringt, um an Gelatine zu sparen, auf eine sterilisierte Glasfläche einige isoliert von einander liegende Tropfen von sterilisiertem Wasser oder von sterilisierter Bouillon, bringt mit dem Platindraht eine Probe des Untersuchungsmateriales in den ersten Tropfen und überträgt mittelst der stets von Neuem ausgeglühten Platinnadel den Infectionsstoff nach einander in die weiteren Tropfen; von dem letzten Tropfen wird eine Oese in ein Röhrchen mit verflüssigter Gelatine gebracht und diese in ein *Petri*'sches Schälchen ausgegossen.

Anstatt der Gelatine kann man Agar zu den Plattenculturen verwenden; dieser Nährboden braucht aber zur Herstellung der Culturen eine grössere Sorgfalt als die Gelatine. Das Agar ist bei etwa 90° flüssig und geht bei 40° in den festen Zustand über; man muss daher die verflüssigte Agarmasse bis auf 40° abkühlen und dann erst die Impfung vornehmen, da bei einer höheren Temperatur die Mikroorganismen zu Grunde gehen könnten. Die geimpfte Masse wird unter den früher beschriebenen Vorsichtsmassregeln auf die sterilisierte Platte gegossen. Da sich Sterilisationswasser ausscheidet, so kommt es dahin, dass die Agarmasse von der Platte leicht abfliesst; deshalb wird am Rande des Agars durch Herabtropfen von Siegellack das Abgleiten verhindert. Zweckmässiger ist es, die Agarmasse in die *Petri*'schen Schälchen oder auf die *Soyka*'schen Platten zu bringen.

Die Agarplatten haben den besonderen Vortheil, dass man sie bei Bruttemperatur durch längere Zeit aufbewahren kann, und dass sie einer Verflüssigung nicht unterliegen.

Das Rollverfahren kann auch bei Agarculturen in Anwendung gebracht werden.

Zur leichteren Isolierung der Mikroorganismen hat *Dahmen* einen Apparat angegeben, der aus einem Doppelschälchen besteht, dessen oberer Theil über den unteren hinausreicht; das untere Schälchen wird auf eine Glasplatte gestellt und mit einem Gummiring umgeben, auf dem das obere Schälchen fest aufliegt. Das untere Schälchen wird mit dem geimpften Agarnährboden beschickt, inmitten des Gummiringes aufgestellt und mit dem grösseren Schälchen überdeckt; das Ganze wird mit einem Gummibande umgürtet und in den Brutschrank gestellt.

Die einzelnen Inseln treten auf der Agarplatte in ähnlicher Weise wie auf der Gelatineplatte auf, erscheinen farbig oder schillernd und zeigen charakteristische Gestalten.

## Plattenculturen auf Blutserum und Kibitzeiweiss.

Das Blutserum .wird nur im festen Zustande benützt und ist besonders zu Strichculturen geeignet.

Um das Blutserum zu Plattenculturen zu gebrauchen, versetzt es *Hüppe* mit der gleichen Menge einer warmen Agarlösung; es kann auch in Gelatine suspendirt werden. *Unna* hob die Gerinnungsfähigkeit des Blutserums durch eine starke Alkalisation auf, um es zu Gelatine oder Agar zuzusetzen.

Dieser Nährboden besitzt für eine Reihe von Mikroorganismen besondere Vorzüge.

Das aus den durch 1promilligen Sublimat keimfrei gemachten Kibitzeiern entnommene Eiweiss kann mit Mikroorganismen geimpft und unter dem Recipienten einer Luftpumpe über Schwefelsäure getrocknet werden. Derartig inficierte Platten können, wenn sie in einem desinficierten Raume aufbewahrt werden, längere Zeit erhalten bleiben. Bringt man solche Platten in eine feuchte Kammer, so treten auf der dünnen, getrockneten, durchsichtigen Eiweissschichte verschieden geformte Felder von wechselnder Grösse auf, die von hier aus auf andere Nährböden übertragen werden können. In ähnlicher Weise wie das Blutserum kann auch das Kibitzeiweiss mit Gelatine oder Agar vermischt und so zu Plattenculturen verwendet werden.

In ähnlicher Weise wie von der Gelatineplatte werden die Mikroorganismen von Agarplatten oder von Blutserum auf andere Nährböden übertragen und ihre Wachsthumserscheinungen beobachtet.

## Züchtung anaërober Mikroorganismen.

Für die Züchtung der sogenannten anaëroben Mikroben, das heisst für jene, welche bei geringer Zufuhr oder bei vollständigem Abschlusse der Luft gedeihen, sind eine ganze Reihe von Methoden angegeben, von denen im Folgenden einige angeführt werden sollen.

Am naheliegendsten ist es, dem Nährboden von vornherein solche Substanzen zuzusetzen, die den vorhandenen Sauerstoff reducieren. Man erreicht dies, indem man einer Nährgelatine 2 Pro-

cent Traubenzucker oder 0·1 Procent Resorcin oder dem flüssigen Nähragar ½ Procent ameisensaures oder indigosulfosaures Natron zusetzt.

Um Plattenculturen anaërober Mikroorganismen anzulegen, kann man nach *Koch* den Sauerstoff dadurch entfernen, dass man auf die Gelatine- oder die Agarmasse vor der vollständigen Erstarrung ein dünnes, sterilisiertes Plättchen aus Glimmer oder aus Marienglas legt, das sich der Oberfläche der Nährmasse anschmiegt; der Abschluss des Sauerstoffes wird vollkommen, wenn man den Rand des Glimmerplättchens mit flüssigem Paraffin umzieht.

In sehr einfacher Weise erfolgt nach *Buchner* die Beseitigung des Sauerstoffes durch eine alkalische Lösung von Pyrogallol, zu deren Bereitung 1 Grm. Pyrogallol in 10 Ccm. Wasser gelöst und mit 1 Ccm. concentrierter Kalilauge versetzt wird.

Eine andere Methode der Plattencultur anaërober Mikroben besteht darin, dass man die mit den Mikroorganismen beschickte Platte unter den Recipienten einer Luftpumpe bringt und durch Auspumpen dem Sauerstoffe den Zutritt verwehrt.

Um den Sauerstoff zu entfernen, kann man auch nach *Blücher* und *Botkin* die Luft der Glasglocke mittelst Gummischläuchen durch ein anderes Gas, namentlich durch Wasserstoff, ersetzen, indem man die untere Oeffnung der Glasglocke durch flüssiges Paraffin oder durch Glycerinwasser abschliesst.

Eine vollständige Entfernung des Sauerstoffes im Reagensglase durch Auspumpen erzielt *Gruber* dadurch, dass er ein längeres Reagensrohr etwa 15 Cm. über dem Boden zu einem engen Halse auszieht, mit Hilfe eines Trichters mit 10 Ccm. der Nährmasse füllt, mit Watta verschliesst und sterilisiert. Nach der Impfung wird der Wattapfropf bis zur verengten Stelle hinabgedrückt und in das Rohr ein dicht anliegender Kautschukpfropf gesetzt, dessen Durchbohrung ein rechtwinkliges Glasrohr trägt, das mit einer Luftpumpe verbunden wird. Während der Nährboden im luftverdünnten Raume in einem Wasserbade von 30—40° erwärmt wird, wird die Luft ausgepumpt. Hierauf wird das Röhrchen an der verengten Stelle über der *Bunsen*'schen Flamme zugeschmolzen und die Gelatine nach der *Esmarch*'schen Methode ausgerollt.

Um die Luft im Reagensglase durch Wasserstoff zu verdrängen, wird nach *Fuchs* das inficierte Röhrchen umgedreht und mittelst eines Glasrohres Wasserstoff von unten her eingeleitet; darauf wird das Röhrchen mit einem Gummipfropf verschlossen.

Für Culturen im Reagensglase eignet sich in ganz besonderer Weise die Anlegung von hohen Culturen nach *Liborius*. Man vertheilt in einem mit Gelatine oder Agar hoch gefüllten Röhrchen, das durch gründliches Auskochen von Luft und Sauerstoff befreit und auf 40° abgekühlt wird, mittelst einer Platinnadel den Impfstoff möglichst gleichmässig und lässt rasch in Eiswasser erstarren; es sind dadurch die tieferen Schichten der Nährmasse durch die höheren Lagen von der äusseren Luft abgeschlossen, während die oberflächlichen Lagen dem Sauerstoffe ausgesetzt sind. Wenn in einer Cultur mehrere Bakterienarten zur Entwicklung kommen, so hat man dadurch ein Mittel, um die aëroben, an der Oberfläche gedeihenden, von den anaëroben, in der Tiefe wachsenden Mikroorganismen zu unterscheiden.

Um Stichculturen anaërober Mikroben anzulegen, benützt man auch die hohen Culturen und führt die den Infectionsstoff tragende Platinnadel durch die starre Nährmasse hindurch möglichst in die Tiefe. Während im Beginne die Entwicklung nur in der Tiefe erfolgt, steigt allmälig das Wachsthum in die Höhe, weil die gasigen Stoffwechselproducte die Luft aus den höheren Schichten des Nährbodens verdrängen.

*Nikiforoff* züchtet die Anaëroben im hängenden Tropfen. Man versieht ein Deckgläschen mit einem geimpften Bouillontröpfchen, umzieht es mit einer Vaselinschichte und lässt nun zwischen den Rändern des Deckgläschens und den Rändern des Hohlschliffes des Objectträgers (Fig. 16) auf der einen Seite eine Platinöse voll starker Pyrogallussäurelösung und nach der Verschiebung des Deckgläschens auf der entgegengesetzten Seite eine gleiche Menge Kalilauge zufliessen, worauf sich nach richtiger Lagerung des Objectes die beiden Flüssigkeiten mischen.

Als geeigneter Nährboden für anaërobe Culturen erscheinen die Hühnereier. Diese von *Hüppe* und *Heim* empfohlene Art der Züchtung ist oben (siehe pag. 36) näher beschrieben worden.

Um obligate Anaëroben zu züchten, müssen nach *Kitasato* die betreffenden Untersuchungsmaterialien vorher erhitzt werden, damit dadurch die facultativen Anaëroben fortgeschafft werden.

## Dauerculturen.

Um Bakterienculturen zu conservieren, so dass sie jederzeit untersucht werden können, muss die Verdunstung der im Nährboden enthaltenen Feuchtigkeit, sowie die Möglichkeit der Verunreinigung ausgeschlossen werden; die Gefässe müssen abgeschlossen sein. *Král* sticht aus gekochten Kartoffeln Cylinder aus, zerlegt sie in Scheiben und bringt sie in cylindrische Glasdosen, deren Deckel dicht aufgeschliffen und dessen Rinne mit Glycerin ausgegossen ist. Nach der Impfung erfolgt der keimdichte Abschluss durch Paraffin und Weingeistfirniss.

Auch durch Zuschmelzen der Reagensgläser lassen sich Culturen conservieren. *Prausnitz* übergiesst die Stichculturen, die in Eiswasser gestellt sind, mit einer wässerigen, 1 Procent Carbolsäure oder 5 Procent Essigsäure enthaltenden Gelatine und versiegelt den Korkverschluss.

Nach *Duclaux* schliesst man die Bakterienculturen in Lymphröhrchen ein.

*Jacobi* setzt die in möglichst dünner Schichte ausgebreitete, colonientragende Gelatine erst der Einwirkung von 1procentigem Kaliumbichromat durch 1—3 Tage bei Lichtzutritt aus, härtet sie in Alkohol und zerschneidet sie in Stücke, um diese wie Gewebsschnitte zu färben und zu conservieren.

Um Theilchen von Agarplatten zu conservieren, bringt sie *Günther* in ein auf dem Objectträger befindliches Tröpfchen Glycerin, legt darauf ein zweites Tröpfchen und schliesslich das Deckglas; nach Absaugung des überschüssigen Glycerins erfolgt der Einschluss in Lack.

# Mikroskopische Untersuchung der Mikroorganismen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung verfährt man anfangs in der einfachsten Weise, indem man mit Hilfe der Platinnadel den einzelnen Inseln auf der Platte Pröbchen entnimmt, in Wasser aufschwemmt und der Beobachtung unterzieht. Es ist zu beachten, dass nicht zu viel Flüssigkeit genommen und nur so viel verwendet werde, als dem Zwischenraume zwischen Deckgläschen und Objectträger entspricht. Das Deckgläschen darf nicht frei auf der Flüssigkeit umherschwimmen und diese nicht über den Rand des Deckgläschens hinausreichen. Bei der Untersuchung mit starken Vergrösserungen hat man darauf Rücksicht zu nehmen, welche Formen die betreffenden Mikroorganismen aufweisen, ob man es mit Stäbchen oder mit Kokken zu thun hat, ob sie in Ketten mit einander in Verbindung stehen, ob die Ketten gerade oder spiralig verlaufen und ob die Kokken zerstreut oder in Reihen liegen.

Die Grösse wird nach Mikromillimetern (Mikren) gemessen oder ein Vergleich mit anderen ähnlichen Gebilden, namentlich rothen Blutkörperchen, gezogen.

## Untersuchung im hängenden Tropfen.

Eine sehr zweckmässige Methode, die frisch entnommenen Mikroorganismen zu beobachten, ist die Untersuchung im hängenden Tropfen. Man krümmt zu diesem Zwecke das Ende eines Platindrahtes mit Hilfe einer Pincette zu einer kleinen Oese um. Wird diese in eine bakterienhältige Flüssigkeit getaucht, so bleibt so viel von der Flüssigkeit daran haften, dass man einen Tropfen bekommt, der auf ein Deckgläschen übertragen wird. Nun nimmt man einen „hohlen“ Objectträger, der in der Mitte ausgeschliffen ist und dessen Höhlung mittelst eines feinen Pinsels mit Vaselin umzogen wird und bringt das Deckgläschen, mit dem Tropfen nach abwärts gerichtet, so auf den Objectträger, dass es an dem Vaselin festhaftet. Hat man keine bakterienhaltige Flüssigkeit, sondern will man thierische Gewebe oder feste Nährmaterialien auf ihren Gehalt an Mikroorganismen untersuchen, so bringt man mit der Oese der Platinnadel einen Tropfen sterilisierten Wassers oder einer sterilisierten Kochsalz-

lösung auf das Deckglas und überträgt ein Pröbchen der zu untersuchenden Masse in den Tropfen.

Bei der Beobachtung des hängenden Tropfens muss man zuerst bei schwacher Vergrösserung den Rand des Tropfens aufsuchen und dann mit starker Vergrösserung einstellen; der Rand erscheint durch eine schärfer abgesetzte Linie begrenzt; man kann auf diese Weise leichter die Einstellung der Mikroorganismen im Tropfen durchführen, was besonders dem Anfänger die Untersuchung erleichtert. Auch sind am Rande die Elemente in dünnerer Schichte vorhanden als in der Mitte. Da es sich um die Beobachtung ungefärbter Elemente handelt, so muss man mit möglichst enger Blende untersuchen.

Es wird nun im hängenden Tropfen gleichfalls auf die oben angeführten Eigenschaften der frisch untersuchten Bakterien Rücksicht genommen, und es tritt bei dieser Untersuchungsmethode die Beweglichkeit deutlicher hervor. Der Tropfen ist durch die Abschliessung des Raumes vor Verdunstung geschützt. Bei längerer Untersuchung senken sich die Mikroorganismen gegen die Kuppe des Tropfens und entrücken zuweilen der Beobachtung. Hat man sich an frischen Präparaten davon überzeugt, dass Mikroorganismen vorhanden sind, und sie auf Form, Vermehrung und Beweglichkeit geprüft, so schreitet man an die Färbungen, die durch die bisherigen Untersuchungen so mannigfach gestaltet sind, dass wir sie hier ausführlicher besprechen müssen, zumal sie Unterscheidungsmerkmale darbieten, und die Färbung dadurch von höchster Bedeutung für die Bestimmung der einzelnen Arten ist.

## Färbung der Mikroorganismen.

Die Färbung stellt ein unerlässliches Hilfsmittel zum Studium des feineren Baues und des Verhaltens der Mikroorganismen zu den Zellen des Körpers dar. Zu ihrer Durchführung benützt man eine Reihe von Farbstoffen, die wir oben (pag. 22) angeführt haben. Von diesen werden Lösungen in verschiedener Weise angefertigt, die sowohl für die isolierten Mikroorganismen, als auch für die Mikroben in den Geweben verwendet werden. Die basischen Anilinfarben werden meist in Alkohol gelöst vorräthig gehalten; diese Lösungen werden mit Wasser verdünnt, so dass wir zur Färbung eine verdünnte, alkoholische Lösung verwenden, deren Verdünnungsgrad aber nicht zu hoch sein darf.

*Günther* hat darauf aufmerksam gemacht, dass der absolute Alkohol sich zum Gebrauche bei der Färbung mit basischen Anilinfarbstoffen nicht eignet, ebenso wie er unfähig ist, aus gefärbten Zellen den Farbstoff zu extrahieren.

### Einfache Deckglasfärbung.

Das Verfahren bei dieser einfachsten Art der Färbung ist folgendes: Man bringt mit der Spitze der ausgeglühten Platinnadel eine Probe des Untersuchungsmateriales auf ein Deckgläschen, verdünnt allenfalls mit Wasser und vertheilt mit der an der Spitze platt geschlagenen Nadel die im Wasser suspendierten Organismen

auf der Oberfläche des Deckgläschens (Ausstrichpräparat); dies erfolgt am besten dadurch, dass man ein zweites Deckgläschen aufdrückt und über das inficierte hinwegzieht. Dadurch erscheint auf beiden Deckgläschen die Untersuchungsmasse gleichmässig vertheilt. Häufig findet sich an der mikroorganismenhaltigen Masse genügend Feuchtigkeit, so dass es überflüssig ist, Wasser hinzuzufügen. Will man den Saft von Organen untersuchen, so fasst man ein Stückchen des Organes mit einer Pincette und bestreicht damit das Deckgläschen. Man trocknet die Deckgläschen an der Luft und zieht sie dreimal durch die Flamme, um die Mikroorganismen an der Glasfläche zu fixieren. Die Färbung wird derart vorgenommen, dass man Tropfen des Farbstoffes auf die inficierte Fläche des Deckgläschens bringt, oder indem man den Farbstoff in ein Uhrschälchen giesst und das Deckgläschen mit der bakterienhaltigen Fläche nach unten auf die Farblösung bringt. Nach 1—5 Minuten wird das Deckgläschen vom überschüssigen Farbstoffe befreit, indem man es in Wasser auswäscht, an der Luft getrocknet, was durch vorheriges Aufsaugen der Tropfen mittelst Fliesspapier erleichtert wird und in einem mässig flüssigen Canadabalsam conserviert. Will man das Präparat nicht conservieren, so kann man es in Wasser oder in einer sehr verdünnten Lösung von essigsaurem Kali beobachten. Solche Präparate werden mit Hilfe des *Abbé*'schen Beleuchtungsapparates ohne Blende, mit Luftlinsen oder homogener Immersion untersucht: man erhält die gefärbten Präparate deutlich sichtbar und kann die Contouren feststellen; man bezeichnet solche Bilder als Farbenbilder zum Unterschiede von den ungefärbten Structurbildern, die nur mit enger Blende untersucht werden sollen.

Wird nämlich der *Abbé*'sche Beleuchtungsapparat ohne Blende verwendet, so können alle in die unteren Linsen eintretenden Lichtstrahlen, deren Kegel einen sehr stumpfen Oeffnungswinkel besitzt, in das Object gelangen.

Die Bakterien sind nämlich in Flüssigkeiten und Gewebe schwierig zu beobachten; sie sind nur durch die Schatten sichtbar, welche durch die Verschiedenheiten im Lichtbrechungsvermögen der einzelnen Gewebe entstehen. Man muss daher wenig Licht in das Präparat eintreten lassen, also möglichst enge Blenden anwenden, worunter die Deutlichkeit leidet. Wenn man aber die Bakterien färbt, ist es möglich, die Blenden zu entfernen und bei voller Anwendung des *Abbé*'schen Beleuchtungsapparates zu untersuchen.

Das Farbenbild ist am schönsten, wenn das Structurbild ausgelöscht wird, wenn die Schatten der ungefärbten Theile durch den breiten Lichtkegel zum Verschwinden gebracht werden.

Bezüglich des Structurbildes ist noch zu bemerken, dass die Blende bei schwacher Vergrösserung möglichst enge sein und beim Wachsen der Vergrösserung an Weite zunehmen soll.

## Bereitung der Farblösungen.

Für die einfachste Art der Bakterienfärbung werden Lösungen von Fuchsin, Methylenblau, Gentianaviolett, Bismarckbraun, Vesuvin (in gleichen Theilen Wasser und Glycerin),

Methylviolett verwendet. Gentianaviolett und Fuchsin färben rascher und intensiver als die übrigen Farbstoffe.

Um die färbende Kraft bei den verschiedenen Mikroorganismen zu erhöhen, werden, wie auch sonst bei histologischen Färbungsmethoden, gewisse Beizen angewendet.

Bei den bakteriologischen Untersuchungen werden meist als Beizen Anilinöl oder Phenol verwendet.

Das Anilinöl ist kein echtes Oel und wird aus dem Theer gewonnen; man benützt es in der Weise, dass man sich ein Anilinwasser herstellt, in dem die Farbstoffe, zumeist Gentianaviolett oder Fuchsin, gelöst werden. Man soll das Anilinwasser jedesmal frisch bereiten oder es wenigstens nicht lange stehen lassen, da es sich rasch zersetzt. Zu seiner Herstellung wird eine Eprouvette mit Wasser gefüllt und mit 1—2 Ccm. Anilinöl so lange geschüttelt, bis eine Emulsion entsteht, die filtriert wird; das klare Filtrat ist das zu verwendende Anilinwasser. Man setzt dann von der alkoholischen Farblösung soviel zu, bis die Lösung dunkel saturiert ist. Die Concentration des Anilinwassers beläuft sich auf 5 : 100.

*Trenkmann* bereitet seine Gentianaviolettanilinwasserlösung auf folgende Weise: Man lässt in ein Reagensgläschen einen Tropfen concentrierter alkoholischer Gentianaviolettlösung fallen und bringt darauf 10 Ccm. Wasser; von diesem giesst man die Hälfte ab und füllt die Gläschen mit Anilinwasser an; diese Lösung bleibt klar, färbt die Bakterien intensiv, den Grund aber sehr schwach. In der Farblösung bleiben die Deckgläschen ungefähr eine halbe Stunde.

Statt des Anilinwassers wird eine 5procentige wässerige Carbolsäurelösung verwendet, die mit einer alkoholischen Fuchsinlösung bis zur dunklen Färbung der Mischung versetzt wird. Diese Mischung wird als *Ziehl*'sche Lösung bezeichnet; man stellt sie folgendermassen dar:

5·0 krystallisierte Carbolsäure,
100·0 Wasser,
10·0 Alkohol,
1·0 Fuchsin.

Statt des Fuchsins wird nach *Kühne* Methylenblau mit 5procentiger Carbolsäure, Wasser und Alkohol vermengt und dadurch eine Lösung von starker Färbekraft erhalten.

Statt der Carbollösung verwendet man als Beize auch eine 1procentige Ammoniumcarbonatlösung.

*Koch* verwendet Kalilauge als Zusatz, indem er zu 1 Ccm. einer concentrierten, alkoholischen Methylenblaulösung 200 Ccm. Wasser und 0·2 Ccm. einer 10procentigen Kalilauge zufügt.

*Löffler* setzt zu 30 Ccm. einer concentrierten, alkoholischen Methylenblaulösung 100 Ccm. einer 0·01procentigen Kalilauge zu.

Für gewisse Färbungen, insbesondere für Tuberkelbacillen, verwendet man eine Methylenblauschwefelsäure, zu deren Bereitung 100 Theile einer 25procentigen Schwefelsäure mit 2 Theilen Methylenblau versetzt werden, oder eine Methylenblausalpetersäure, die eine gesättigte Lösung von Methylenblau in 20 Theilen Salpetersäure, 30 Theilen Alkohol und 50 Theilen destilliertem Wasser darstellt.

In vielen Fällen wird die verschiedene Färbung durch die Wärme unterstützt, indem man die Farbstofflösungen auf dem Deckgläschen oder im Uhrgläschen während der Färbung erwärmt. Wenn etwa bakterienhaltige Gewebsschnitte erwärmt werden sollen, so muss vorsichtig gearbeitet werden, um eine Zerstörung des Gewebes zu verhüten, zumal die Färbung bei Schnitten länger andauert.

## Geisselfärbung.

Um die Geisseln beweglicher Mikroorganismen sichtbar zu machen, verwendet *Löffler* eine Mischung von 10 Ccm. einer 20procentigen Tanninlösung und einigen Tropfen einer gesättigten Ferrosulfatlösung mit Fuchsin oder mit 4—5 Ccm. Extractum campechianum. Gefärbt wird mit Anilinwasserfuchsin, dem man von einer 1 pro Mille Natronlauge bis zur Schwebefällung zusetzt; bei alkalibildenden Bakterien muss die Beize entsprechend sauer, bei Säurebildnern entsprechend alkalisch gemacht werden.

Nach *Trenkmann* bringt man sich die Cilien zur Ansicht, wenn man die Präparate vor der Färbung mit Tanninsalzsäure oder Catechugerbsäure mit Carbolsäurezusatz oder Campecheholzextract mit Säure behandelt; die Geisseln werden noch deutlicher, wenn man die gebeizten und gefärbten Präparate in einem Tropfen Jodwasser untersucht. Man bringt auf einen Objectträger 2—3 Tropfen gekochten Wassers, versetzt sie mit einem kleinen Tropfen der zu untersuchenden Cultur, mischt gut, bringt ein kleines Tröpfchen auf ein Deckglas, breitet es aus, trocknet an der Luft und legt, ohne zu erhitzen, in eine Lösung, die 2 Procent Tannin und $^1/_2$ Procent Salzsäure enthält. In dieser Lösung bleibt das Deckglas 6—12 Stunden, wird dann in Wasser abgespült, auf eine Stunde in Jodwasser gelegt, wieder abgespült und für eine halbe Stunde in eine schwache Gentianaviolettanilinwasserlösung gebracht.

## Sporenfärbung.

Es ist möglich, durch das Erwärmen der Farblösungen bei sporenhaltigen Mikroorganismen eine Färbung der Sporen zu erhalten, indem man Carbolsäurefuchsin (*Ziehl*'sche Lösung) zur Färbung verwendet und das inficierte Deckgläschen in der kochenden Farblösung durch eine Stunde belässt. Nach dem Auswaschen mit Wasser und Entfärben mit Alkohol bleibt die Spore in dem Stäbchen roth gefärbt. Wird eine Nachfärbung mit Methylenblau vorgenommen, so erscheinen die Bacillen blau und die Sporen dunkelroth. Um diese Färbungen zu studiren, wähle man den Heubacillus und besonders den Bacillus megaterium. Bei vielen der bisher bekannten Mikroben ist es noch nicht gelungen, Sporen aufzufinden.

Die Sporen sind kleine Körnchen, die durch Färbung mit verdünntem, alkalischem Methylenblau deutlich hervortreten; bei Nachfärbung mit wässeriger Bismarckbraunlösung erscheinen sie blau auf braunem Grunde.

Nach *Moeller* färbt man die Sporen am zweckmässigsten nach folgender Methode: Man bringt das Deckglaspräparat auf zwei Minuten

in absoluten Alkohol und auf weitere zwei Minuten in Chloroform, spült es in Wasser ab, taucht es auf $^1/_2$—2 Minuten in eine 5procentige Chromsäure ab, spült wieder mit Wasser ab, träufelt eine wässerige Carbolfuchsinlösung auf und erwärmt unter einmaligem Aufkochen eine Minute in der Flamme; das Carbolfuchsin wird abgegossen, das Deckgläschen bis zur Entfärbung in 5procentige Schwefelsäure getaucht und abermals mit Wasser gründlich ausgewaschen; dann lässt man durch eine halbe Minute eine wässerige Lösung von Methylenblau oder Malachitgrün einwirken und spült ab. Es sind dann die Sporen dunkelroth im blauen oder grünen Bakterienkörper.

## Entfärbungsmittel.

Bei der Färbung mit den verschiedenen Anilinfarbstoffen ist man auf eine für die Technik wichtige Erscheinung aufmerksam gemacht worden, dass die gefärbten Mikroorganismen an gewisse Reagentien ihren Farbstoff abgeben. Man bezeichnet solche Reagentien als Entfärbungsmittel. Zu diesen zählen wir Wasser, Alkohol, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Jod etc.

Auf der Entfärbung durch eine oder die andere der vorgenannten Flüssigkeiten beruhen verschiedene Methoden, die für die Diagnose der Mikroorganismen und für die Technik ihrer Färbung in Schnitten ausserordentliche Bedeutung erlangt haben.

### Färbung nach Koch und Ehrlich.

In erster Linie gehört hierher die *Koch-Ehrlich*'sche Färbungsmethode der Tuberkelbacillen, bei der sowohl die Beize, als auch die Entfärbung zur Wirkung kommen. Man bereitet sich in der oben angeführten Weise ein Anilinwasser und setzt von einer alkoholischen Fuchsin- oder Gentianaviolett- oder Methylviolettlösung so viel zu, bis man eine verdünnte alkoholische Lösung, die ziemlich saturiert ist, besitzt. Es werden dann Klümpchen von Sputis oder von der Wandung einer Lungencaverne auf ein Deckgläschen gebracht und mittels eines zweiten Deckgläschens verrieben, so dass beide Gläschen einen feinen Ueberzug der Untersuchungsmasse tragen. Hierauf wird an der Luft getrocknet, das Deckgläschen wird mittelst einer Pincette mit der bacillenhältigen Seite nach oben, dreimal durch die Flamme gezogen, dann in die Farbstofflösung gebracht und entweder durch 24 Stunden bei Zimmertemperatur belassen oder durch 15 Minuten bis zum Aufsteigen von Blasen erwärmt. Mittelst einer Pincette wird das Deckgläschen aus der Farbe gehoben und in eine Lösung von ungefähr 33 Procent Salpetersäure auf einige Secunden eingetaucht, bis das früher roth gefärbte Präparat gelblichgrün wird, und in 70procentigem Alkohol ausgewaschen. Wenn Fuchsin zur Färbung verwendet wurde, so wird mit Methylenblau oder Malachitgrün oder Pikrinsäure nachgefärbt; bei vorheriger Färbung mit Gentiana- oder Methylviolett wird zur Nachfärbung Bismarckbraun verwendet. Die Nachfärbung dauert 1—5 Minuten, bis die betreffende Farbe auf dem Deckgläschen deutlich sichtbar ist. Hierauf werden die Deckgläschen in Wasser ausgewaschen, getrocknet und in Canadabalsam einge-

schlossen; man kann nach dem Auswaschen in Wasser sie auch in Alkohol bringen und sie mit Nelkenöl und Canadabalsam behandeln.

Bei dieser Färbungsmethode wirkt die Salpetersäure als Entfärbungsmittel für die verschiedenen Mikroorganismen, die in der Untersuchungsmasse enthalten sind, nur die Tuberkelbacillen geben ihre Farbe an die Salpetersäure nur nach sehr langer Einwirkung ab.

## Färbung nach Ziehl und Neelsen.

Die *Koch-Ehrlich*'sche Methode wurde von *Ziehl* und *Neelsen* dahin modificiert, dass statt des Anilinwasserfuchsins Carbolsäurefuchsin verwendet wurde. Man bringt auch hier die Farbe entweder auf das Deckgläschen oder legt das Deckgläschen, mit der Präparatseite nach unten, in eine erwärmte Farblösung. Darauf wird mit Wasser abgespült und in 33procentiger Salpetersäure oder in 5procentiger Schwefelsäure entfärbt. Im Uebrigen ist das Verfahren ähnlich der *Koch-Ehrlich*'schen Methode. Die Nachfärbung erfolgt mit Malachitgrün, Pikrinsäure oder Methylenblau.

## Färbung nach Ehrlich.

Zum Nachweise von Tuberkelbacillen im Eiter empfahl *Ehrlich*, den Eiter sehr dünn aufzustreichen, das Präparat 1—2 Stunden in kaltem Anilinfuchsin zu lassen und mit Sulfanilsalpetersäure (1 Theil Salpetersäure auf 3—6 Theile gesättigter Sulfanilsäurelösung) zu entfärben; die Nachfärbung erfolgt mit Methylenblau.

## Färbung nach Günther.

Nach *Günther* färbt man mit erwärmtem Anilinwasserfuchsin, worauf das Deckgläschen, mit der Präparatenseite nach oben, in einen salzsäurehaltigen (3 : 100) Alkohol gebracht und in diesem durch eine Minute hin und her, auf und ab bewegt und mit Wasser abgespült wird; nun werden mittelst einer Pipette wenige Tropfen einer verdünnten, alkoholischen Methylenblaulösung auf das Gläschen geträufelt, das dann in Wasser ausgewaschen, getrocknet, wieder dreimal durch die Flamme gezogen und in Xylolcanadabalsam eingeschlossen wird.

## Färbung nach Weichselbaum.

Die *Ziehl-Neelsen*'sche Methode wird dahin geändert, dass man die roth gefärbten Deckglaspräparate direct in eine alkoholische Methylenblaulösung bringt, wo sie so lange bleiben, bis sie eine gleichmässige blaue Färbung zeigen. Hierauf werden sie in Wasser abgespült, getrocknet und in Canadabalsam eingeschlossen. Es ist hier der Alkohol das einzige Entfärbungsmittel.

## Färbung nach Fraenkel.

Man färbt die Deckgläschen mit Anilinwasserfuchsin und bringt sie in eine Flüssigkeit, die aus 50 Theilen Wasser, 30 Theilen Alkohol,

20 Theilen Salpetersäure und Methylenblau bis zur Sättigung besteht. Wenn das Präparat blau erscheint, so wird es in essigsaurem Alkohol oder in reinem Wasser ausgewaschen und in Wasser untersucht.

## Färbung nach Gabbet.

Das in Carbolsäurefuchsin gefärbte Präparat wird in eine Methylenblauschwefelsäure (2 Grm. Methylenblau auf 100 Grm. einer 25procentigen Schwefelsäure) gebracht und mit Malachitgrün nachgefärbt.

## Methode von Pfuhl und Petri.

Die Präparate werden in einem Gemisch von 10 Ccm. alkoholischer Fuchsinlösung auf 100 Ccm. Wasser gefärbt; die Entfärbung erfolgt in Eisessig; nach dem Auswaschen in Wasser wird mit Malachitgrün nachgefärbt, wieder in Wasser ausgewaschen, getrocknet und in Canadabalsam eingeschlossen. Hier wirkt der Eisessig als Entfärbungsmittel.

## Methode von Pittion.

Das Deckglaspräparat wird eine Minute lang in eine Mischung von 1 Theil alkoholischer Fuchsinlösung mit 10 Theilen einer 3procentigen Ammoniaklösung getaucht und nach Abspülung in Wasser auf $^3/_4$ Minuten in eine concentrierte Lösung von Anilingrün in 50 Grm. Alkohol, 30 Grm. Wasser und 20 Grm. Salpetersäure gebracht.

## Chloroformmethode von Arens.

Um das Erhitzen, sowie die Herstellung einer complicierten Farblösung zu vermeiden, wird als Farbflüssigkeit eine mit Chloroform versetzte alkoholische Fuchsinlösung und zur Entfärbung salzsaurer Alkohol verwendet. Die Fuchsinlösung wird in der Weise bereitet, dass man in einem Uhrglase einen hirsekorngrossen Fuchsinkrystall mit drei Tropfen absoluten Alkohols übergiesst und 2—3 Ccm. Chloroform zufügt; es entsteht eine Trübung der Lösung, die sich mit dem Abscheiden von flockigem Fuchsin zu klären beginnt. In die geklärte Lösung bringt man das Deckglaspräparat auf 4—6 Minuten, bis das Chloroform verdunstet ist, und entfärbt in Alkohol, indem auf ein Uhrglas voll concentrierten Alkohols drei Tropfen Salzsäure gegeben werden. Darauf wird in Wasser abgespült und eventuell mit verdünntem Methylenblau nachgefärbt.

## Gram'sche Entfärbungsmethode.

Unter allen Entfärbungsverfahren erscheint diese Methode am meisten verbreitet; sie beruht darauf, dass man Jod in wässeriger Lösung in Verbindung mit Jodkalium (1 Theil Jod, 2 Theile Jodkalium und 150 Theile Wasser) anwendet, nachdem das Präparat mit Anilinwassergentianaviolett gefärbt wurde. Das Jod bildet mit

dem Farbstoff einen Niederschlag, der den Mikroorganismen anhaftet, aber aus den Geweben leicht ausgewaschen werden kann. Wird gehörig ausgewaschen, so erscheinen die Bacillen oder Kokken isoliert gefärbt. Man verfährt bei der Durchführung der *Gram*'schen Methode folgendermassen: Das Deckgläschen mit der bakterienhaltigen Masse oder der bakterienhaltige Durchschnitt wird in Anilinwassergentianaviolett erwärmt. Das zu starke Erwärmen wirkt schädlich. Hierauf wird das Präparat für 1—2 Minuten in die Jodkaliumlösung gelegt, aus der es in absoluten Alkohol kommt, worin es so lange bleibt, bis die Farbe abgegeben wird. Die Bakterien treten durch Gentianaviolett gefärbt auf; eine Nachfärbung mit Pikrocarmin, Magdalaroth oder anderen Farben lässt das Gewebe roth erscheinen.

Die *Gram*'sche Methode ist ein Behelf zur Diagnose für die überwiegende Mehrzahl von Mikroorganismen. So tritt beim Pneumococcus Friedländeri nach Anwendung des *Gram*'schen Verfahrens keine Färbung auf, ebenso wie die Bacillen der Cholera asiatica, die Typhusbacillen, Rotzbacillen, Gonokokken, Recurrensspirillen etc., den Farbstoff nicht zu behalten vermögen, sondern ihn ebenso wie die Kerngebilde nach Zusatz der Jodlösung abgeben.

Recht empfehlenswert ist, die Präparate nicht direct aus der Farblösung in Jodjodkalium zu bringen, sondern sie in reinem Anilinwasser von der überflüssigen Farbe abzuspülen und dann erst in Jodjodkalium zu übertragen *(Botkin)*.

Zweckmässig ist es bei Gewebsschnitten, die Grundfärbung vor der Bakterienfärbung durchzuführen. Man bringt die Schnitte in Pikrocarmin auf 1—2 Minuten, wäscht sie in Wasser aus, bringt sie in Alkohol und unterzieht sie nun der *Gram*'schen Methode.

Die *Gram*'sche Methode ist aber nicht bei allen Farbstoffen anwendbar. *Unna* hat darauf hingewiesen, dass sie bei der Anwendung von Fuchsin, von Methylenblau und von Bismarckbraun keine Resultate gibt. Das *Gram*'sche Verfahren lässt sich nur bei den Pararosanilinen (Methylviolett, Gentianaviolett und Victoriablau) durchführen.

## Günther'sche Modification des Gram'schen Verfahrens.

Man verwendet zur Entfärbung nicht nur reinen Alkohol, sondern auch 3procentigen Salzsäurealkohol. Das Deckgläschen oder der Gewebsschnitt wird in Anilinwassergentianaviolett etwa 2 Minuten belassen; nur zur Färbung der Tuberkelbacillen lässt man den Farbstoff 12 Stunden, zur Färbung der Leprabacillen einen halben Tag einwirken. Die überschüssige Farblösung wird mit Fliesspapier abgetupft und in Jodjodkaliumlösung auf zwei Minuten gebracht, darauf auf eine halbe Minute in reinen Alkohol, auf genau 10 Secunden in 3procentigen Salzsäurealkohol und sofort neuerdings in reinen Alkohol auf mehrere Minuten übertragen. Der Alkohol muss so oft gewechselt werden, bis sich kein Farbstoff mehr vom Präparate abhebt. Nun wird das Deckgläschen getrocknet und in Balsam conserviert; Gewebsschnitte werden in Xylol gebracht, in dem sie nach einer halben Minute schon transparent werden und auf dem Objectträger in Xylolcanadabalsam eingeschlossen.

### Weigert'sche Modification des Gram'schen Verfahrens.

Man bringt die in Gentianaviolett oder Methylviolett gefärbten Schnitte aus der Jodjodkaliumlösung nicht in Alkohol, sondern betropft sie auf dem Objectträger mit Anilinöl, das die Schnitte entwässert und differenziert. Dann tupft man das Anilinöl ab, bringt Xylol auf das Präparat und schliesst es in Xylolcanadabalsam ein.

## Klatschpräparate.

Um bei der Untersuchung der Platten sich rasch ein Urtheil über die Anordnung der Colonien und die mikroskopischen Eigenschaften des betreffenden Organismus zu bilden, werden Klatschpräparate angefertigt. Man legt ein Deckgläschen auf die Platte, drückt es leise an, hebt es mit der Pincette vorsichtig ab und legt es zum Trocknen hin. Es kann dann wie ein Ausstrichpräparat gefärbt werden.

## Untersuchung der Mikroorganismen in Gewebsschnitten.

Die Untersuchung der Mikroorganismen in den Geweben, sowohl innerhalb der einzelnen Zellen, als auch in den aus der Zelle entstandenen Formationen, ist für die Untersuchung zu medicinischen Zwecken von ausserordentlicher Bedeutung; es handelt sich nicht blos darum, welcher Art die Mikroorganismen sind, und in welcher Weise sie in den Körper gelangen; man sucht noch festzustellen, wie sie sich gegenüber den Gewebselementen verhalten, und wo sie in ihnen und zwischen ihnen gelagert sind. Trotz der weit vorgeschrittenen Untersuchungsmethoden ist namentlich die physiologische Wirkung bisher noch unaufgeklärt. Das Verhalten der Mikroben in den Geweben lässt sich in der einfachsten Weise an frischen Organtheilen nur dann erkennen, wenn sie in grösseren Massen vorhanden sind. Man setzt nur einen Tropfen sterilisierten Wassers oder sterilisierter Kochsalzlösung dem betreffenden Gewebe zu und untersucht auf dem Objectträger. Hat man Flüssigkeiten zu untersuchen, so kann man den Zusatz von Wasser unterlassen. Man untersucht dann die kleinen Elemente bei starker Vergrösserung (Oelimmersion mit *Abbé*'schem Beleuchtungsapparat und Blende). Bei dieser Methode können wir nicht feststellen, wie sich das Verhalten der Mikroben zu den Geweben gestaltet und wo sie im Gewebe und in dessen Elementen liegen. Man verfährt daher in der Weise, dass man ein Stückchen des betreffenden Gewebes zerzupft, ein Tröpfchen Säure oder Kalilösung zusetzt und dadurch das Bindegewebe, das in den Organen die Hauptmasse bildet, aufquellen macht; die Bakterien, die den Reagentien gegenüber mehr Widerstandsfähigkeit zeigen, treten deutlich hervor. Durch die Einführung der Färbungstechnik ist es gelungen, Methoden zu finden, welche eine Darstellung der Mikroorganismen in dem unversehrten Gewebe ermöglichen.

## Untersuchung gefrorener Objecte.

Um rasch Organstücke untersuchen zu können, bedient man sich des Gefriermikrotoms. Das frische Material wird auf eine rauhe Metallplatte gelegt und durch einen Aetherspray zum Gefrieren gebracht. Mit einem abgekühlten Messer zerlegt man das Organ in Schnitte, die man auf dem Objectträger aufthauen lässt und dann den später anzuführenden Färbungsmethoden unterwirft; am zweckmässigsten ist es, nach der Färbung in verdünntem Glycerin zu untersuchen.

## Härtung.

Da bei der Benützung des Gefriermikrotoms häufig Zerstörungen des Gewebes durch die sich bildenden Eiskrystalle entstehen, werden die Organe meist gehärtet und dann geschnitten.

Zur Härtung wird in der Histologie eine ganze Reihe von Reagentien verwendet, deren Anwendung aber in der Bakteriologie deshalb unthunlich ist, weil sie den Bakterien die Eigenschaft benehmen, die Anilinfarbstoffe leicht aufzunehmen. Man härtet am zweckmässigsten die einzelnen Stücke, welche die Grösse eines Cubikcentimeters besitzen sollen, in absolutem Alkohol, der mehrmals gewechselt werden muss. Man kann den Alkohol dadurch möglichst wasserfrei erhalten, dass man Krystalle von schwefelsaurem Kupferoxyd (Kupfervitriol) in einer Eisenschale so lange erwärmt, bis sie das Krystallwasser vollständig abgegeben haben und zu einem weissen Pulver zerfallen; nach dem Abkühlen wird es in eine Flasche gebracht und der Alkohol darüber geschüttet; es nimmt begierig das Wasser aus dem Alkohol auf und färbt sich wieder blau. Wird das Präparat in absoluten Alkohol eingelegt, so sinkt es als wasserhaltiges Stück zu Boden, und der Härtungsprocess geht in der unteren Hälfte des Gefässes langsamer vor sich, als in der oberen Hälfte, in der der Alkohol wasserärmer ist. Es ist daher zweckmässig, durch eine Wattaunterlage oder dadurch, dass man die Organe mittelst eines Fadens aussen befestigt, sie in der oberen Partie des Alkohols zu erhalten.

Zur Härtung wird auch eine halbprocentige Chromsäure mit oder ohne Zusatz von Platinchlorid und Essigsäure empfohlen, in der die Bakterien gut erhalten bleiben.

Die Stücke werden nach acht Tagen in Wasser so lange abgespült, bis das abfliessende Wasser keine Gelbfärbung zeigt, und im Alkohol nachgehärtet.

Statt der Chromsäure leistet auch eine concentrierte, wässerige Pikrinsäurelösung gute Dienste. Man belässt die Stücke durch zwei Tage in der Pikrinsäure, wäscht sie durch 24 Stunden in Wasser aus und überträgt sie in verdünnten und von diesem in absoluten Alkohol.

Frische (noch warme) Gewebtheile werden am besten in Sublimat gehärtet; man bringt sie auf 10—30 Minuten in eine bei 70° bereitete 5procentige Sublimatlösung und überträgt sie dann unmittelbar in mässig verdünntem Alkohol, in dem sie einen Tag belassen werden; die vollständige Härtung wird durch absoluten Alkohol erzielt.

# Einbettung.

Die gehärteten Präparate werden zur Zerlegung in Schnitte in der verschiedensten Weise hergerichtet, um in's Mikrotom eingespannt zu werden.

## Einbettung in Gummi arabicum.

Eine der einfachsten Methoden besteht darin, dass man mit Gummi arabicum auf Kork oder Hollundermark oder auf kleine Holzklötzchen aufklebt. Nachdem sie angetrocknet sind, werden sie in Schnitte zerlegt, wobei vorsichtig darauf geachtet werden muss, dass das Messer durch das gehärtete Gummi nicht leide. Man verfährt daher in der Weise, dass die in Schnitte zu zerlegenden Stücke in eine concentrierte syrupöse Lösung von Gummi arabicum gebracht, darin eingebettet und in concentriertem Alkohol aufbewahrt werden; der Alkohol entzieht dem Gummi das Wasser und macht so die Masse fester und schnittfähig.

## Einbettung in Glyceringelatine.

Die zweckmässigste Methode ist das Aufkleben der Organtheile auf kleinen Korkstücken oder Holzklötzchen mittelst einer concentrierten Glyceringelatine, die in der Wärme hergestellt wird. *Fränkel* empfiehlt, 1 Theil Gelatine, 2 Theile Wasser und 4 Theile Glycerin mit einander zu kochen. Mit Hilfe des Glycerinleimes wird das Organstück aufgeklebt und man wartet so lange, bis die Gelatine erstarrt ist; das Stück wird in Alkohol gelegt, wo nach einiger Zeit die Organstücke derart befestigt werden, dass man den Kork einspannen und Durchschnitte herstellen kann. Bei der Schnittführung ist es nöthig, das Messer in eine schiefe Richtung zum Präparate zu bringen und unter steter Befeuchtung mit Alkohol zu schneiden. Die Schnitte müssen vor dem Färben stets in absoluten Alkohol gebracht werden. Um die Glyceringelatine aufbewahren zu können, setzt man einen Tropfen Sublimat zu, damit dadurch das Wachsthum von Mikroorganismen gehindert werde.

## Einbettung in Celloidin.

Sehr zweckmässig ist die Celloidinmethode, die darin besteht, dass die Organstücke mittelst Celloidin, das in Alkohol und Aether gelöst ist, auf Korkstückchen oder Holzklötzchen befestigt und nach Erstarrung des Celloidins in Alkohol gebracht werden; im Alkohol erhält die Masse eine schnittfähige Consistenz. Die Stücke werden in absolutem Alkohol gelegt und 24 Stunden belassen; hierauf werden sie in ein Gemenge gleicher Theile Alkohol und Aether und endlich in eine Celloidinlösung von mässiger Consistenz gebracht, in der sie ebenfalls 24 Stunden liegen bleiben, damit sich das Gewebe mit dem Celloidin durchtränke. Die einzelnen Stücke werden nun herausgenommen und auf Kork mittelst Celloidins befestigt. Ist das Celloidin an der Luft erstarrt, was schon nach einigen Minuten eintritt, so

legt man die an Kork befestigten Stücke in einen sehr verdünnten (30procentigen) Alkohol, in dem nach einiger Zeit das Celloidin trübe wird, bis es nach etlichen Tagen in eine weisse, undurchsichtige Masse umgewandelt ist, die eine solche Festigkeit besitzt, dass das zu schneidende Organstück auf der Korkunterlage fest haftet. Wird nun der Kork in die Klemme des Mikrotoms eingespannt, so ist man in der Lage, die feinsten Durchschnitte herzustellen. Diese Schnitte besitzen gleichsam einen Celloidinmantel, der die Anilinfarben aufzunehmen vermag. Für die *Gram*'sche Methode gibt dieses Verfahren gute Resultate. Will man mehrere Schnitte, die einer auf einander folgenden Reihe entsprechen, nach dieser Methode färben, so eignet sich das in meinem Institute angewandte Verfahren mittelst des Schnittfärbers.[1]) Es werden auf einen grösseren Objectträger mehrere Schnitte, wie man sie der Reihe nach erhält, aufgetragen, mit einem vernickelten Gitter bedeckt und in den Schnittfärber eingeklemmt; das Ganze wird in die auf einander folgenden Flüssigkeiten und Farbstoffe gelegt; das zarte Gitter verhindert das Abgleiten der Präparate, ohne sie irgendwie zu schädigen. Hebt man endlich das Gitter nach vollzogener Behandlung der Schnitte ab, so bleiben sie in der ursprünglichen Reihenfolge liegen; dadurch ist ein Serienpräparat hergestellt (Fig. 26).

Fig. 26.




*Schnittfärber für in Celloidin eingebettete Präparate.*

## Einbettung in Paraffin.

Zur Herstellung feinerer Schnitte dient die Paraffinmethode, die aber in der Bakteriologie nur in seltenen Fällen verwendet wird. Man benützt sie sowohl zur Herstellung einzelner Schnitte, als auch für die Anfertigung von Serienschnitten. Die Organtheile werden auf 24 Stunden in absoluten Alkohol gebracht, auf weitere 24 Stunden in eine Mischung von Chloroform und Alkohol und dann für ebenso lange in reines Chloroform. Xylol, Nelkenöl und Terpentinöl liefern nicht so schöne Resultate. Die mit Chloroform durchtränkten Stücke müssen im Chloroform zu Boden sinken. Hierauf werden sie in Paraffin gelegt, das in der Wärme in Chloroform gelöst wurde; in diesem Chloroformparaffin bleiben sie bei einer Temperatur von 30—40° durch 2—3 Stunden. Hierauf wird das Präparat in Paraffin eingebettet, indem man aus Papier kleine Cartons fertigt, die man auf kaltem Wasser schwimmen lässt. Man trägt in die Papierschächtelchen flüssiges Paraffin ein, nach dessen Erstarren das Organstückchen aufgelegt und mit flüssigem Paraffin bedeckt wird. Dadurch wird die Oberfläche der bereits erstarrten Paraffinschichte wieder flüssig; es erscheint so das Präparat in einem Paraffinziegel eingeschlossen, der nach einigen Stunden mit einem Messer passend zugeschnitten, in's Mikrotom eingespannt und bei Querstand oder geringem Schiefstand des Messers ohne Benützung einer Flüssigkeit

---

[1]) Bei *Siebert* in Wien erhältlich.

in Durchschnitte zerlegt wird. Das Mikrotom gestattet es, die Dicke der Durchschnitte beliebig zu gestalten.

Die einzelnen Schnitte werden in Xylol übertragen, um das Paraffin aus ihnen zu entfernen; hierauf kommen sie in Alkohol und dann in Wasser. Wenn sie im Wasser nicht untergehen, so ist das Paraffin nicht vollständig entfernt worden. Die Schnitte müssen in diesem Falle wieder in Alkohol zurück und aus diesem in Xylol gebracht werden, worauf man sie von Neuem in Alkohol und Wasser überträgt. Die aus dem Wasser gehobenen Schnitte werden nun den entsprechenden Färbungsmethoden unterzogen, im Xylol durchsichtig gemacht und in Xylolcanadabalsam eingeschlossen. Nelkenöl soll zur Aufhellung der Gewebe nicht verwendet werden, da es die Mikroorganismen entfärbt.

Bei der Anfertigung von Serienschnitten nimmt man ein weicheres Paraffin zum Einbetten und bereitet den Einbettungsziegel in ähnlicher Weise wie früher, schneidet ihn viereckig zu und stellt das Mikrotommesser in Querlage. Die an einander haftenden Durchschnitte bilden Bänder von der Gestalt einer Tänia, werden entsprechend neben einander gelagert und auf den Objectträger festgeklebt. Als Klebemittel benützt man meist mit Wasser und Glycerin verdünntes Hühnereiweiss. Das Eiweiss trocknet bei Zimmertemperatur erst nach längerer Zeit; eine raschere Trocknung erzielt man durch gelindes Erwärmen. Um die Haltbarkeit des Glycerineiweisses zu erhöhen, setzt man der Flüssigkeit einen Tropfen Kreosot oder Carbolsäure zu. Andere Aufklebungsmittel sind Collodium, Glyceringelatine oder Glycerinagar in verdünntem Zustande.

Die aufgeklebten Stücke werden durch Xylol vom Paraffin befreit, in Alkohol extrahiert, in Wasser gewaschen, den Färbungsmethoden unterzogen, in ähnlicher Weise wie die Einzelschnitte durch Xylol transparent gemacht und in Canadabalsam eingeschlossen.

## Färbung der Schnitte.

Die Färbung der Schnitte wird nach verschiedenen Methoden vorgenommen, jedoch muss ein gewisses Verfahren bei jeder Methode eingeschlagen werden. Die Schnitte, seien sie Einzelschnitte oder Serienschnitte, werden aus dem Alkohol in Wasser übertragen. Hier bleiben sie so lange, bis sie vom Wasser durchtränkt sind, was als Beweis dafür gilt, dass das Präparat vom Alkohol und von etwa anhaftenden anderweitigen Flüssigkeiten befreit ist; hierauf werden die Präparate durch 2—5 Minuten bis zu 24 Stunden der Einwirkung der gewählten Farbe ausgesetzt; soweit die Gewebe durch die Hitze nicht leiden, kann die Dauer der Einwirkung der Farbe durch Erwärmung abgekürzt werden. Nun muss das Präparat in Wasser so lange ausgewaschen werden, als Farbstoff abgegeben wird. Hierauf werden die verschiedenen Entfärbungsmittel verwendet, aus denen man die Präparate in Wasser und dann in Alkohol bringt, um die Präparate wasserfrei zu machen; nach der Alkoholbehandlung wird das Präparat durch Xylol transparent gemacht. Es ist zweckmässig, den Alkohol, der zur Extrahierung des Wassers verwendet wird, mehrfach zu wechseln. Das Xylol wendet man deshalb an, weil es sich gegen

basische Anilinfarben, sowohl in den Kernen als in den Bakterien, ganz indifferent verhält, was von den sonst zur Aufhellung der Präparate verwendeten Reagentien nicht gilt; ausserdem verdunstet das Xylol ohne Rückstand, verharzt nie und macht deshalb die Gegenstände, mit denen es in Berührung kommt, nicht so schmierig wie das Nelkenöl. Neben Xylol werden noch Terpentinöl, Anilinöl, Phenol, Bergamottöl, Cedernöl, Origanumöl, Zimmtöl etc. verwendet. Ist das Präparat durch Xylol genügend transparent geworden, so wird es auf den Objectträger übertragen, mit Fliesspapier abgetupft und, nachdem ein Tropfen Xylolcanadabalsam auf den Schnitt gebracht wurde, mit einem Deckgläschen eingedeckt.

### Unna's Antrocknungsverfahren (Trockenmethode).

Die mit dem Gefriermikrotom hergestellten Schnitte werden in einer verdünnten alkoholischen Fuchsinlösung gefärbt, in Wasser ausgewaschen, auf kurze Zeit in Alkohol gelegt, in Methylenblau nachgefärbt, mit Fliesspapier abgetupft, auf dem Objectträger über der Flamme getrocknet und in Xylolcanadabalsam eingeschlossen.

### Combinierung von Färbungsverfahren.

Die Farben werden in derselben Weise gewählt, wie bei der Färbung der Bakterien aus der Platte oder aus Bakteriengemischen, und ist die Combination mehrerer Farben deshalb angezeigt, weil sich dann die Bakterienfärbung von der Grundfarbe des Gewebes deutlich abhebt.

### Kühne'sche Methylenblaumethode.

*Kühne*, dem die Färbetechnik die bedeutendsten Fortschritte verdankt, empfiehlt als sicherste Methode die Färbung der Schnitte mit Methylenblau, das in einer 5procentigen Carbolsäure oder in einprocentigem kohlensaurem Ammonium gelöst ist. Die gefärbten Präparate werden zur Differenzierung in eine schwache wässerige Lithioncarbonatlösung oder in leicht angesäuertes Wasser gebracht, dann zur Wasserentziehung in absoluten Alkohol, dem etwas Methylenblau zugesetzt ist, und in Anilinöl, das ebenfalls mit Methylenblau versetzt ist; zur Aufhellung kommt der Schnitt in reines Anilinöl, dann in ein leicht flüssiges, ätherisches Oel, wie Thymen oder Tereben, endlich in Xylol und in Balsam.

Bei der Färbung von Tuberculose-, Lepra- und Mäuseseptikämiebacillen kann man eine Methode benützen, die sich von der vorstehenden dadurch unterscheidet, dass statt des Methylenblaus Fuchsin in Verwendung kommt.

### Koch'sche Methode.

Man bringt die gefärbten Schnitte in eine gesättigte, mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnte Lösung von doppeltkohlensaurem Kali und dann in Alkohol, Cedernöl und Canadabalsam.

## Löffler'sche Methode.

*Löffler* färbt die Schnitte in alkalischer Methylenblaulösung, entfärbt in einer halbprocentigen Essigsäure und bringt sie darauf in absoluten Alkohol, Cedernöl, Canadabalsam.

## Chenzynsky'sche Methode.

Man bringt die Schnitte in eine Methylenblaueosinlösung, die aus 40 Theilen einer concentrierten alkoholischen Methylenblaulösung, 20 Theilen einer halbprocentigen Eosinlösung in 70% Alkohol und 40 Theilen Wasser besteht; nach der Färbung werden die Schnitte in Wasser abgespült und lege artis weiter behandelt. Nach *Plehn* kann man 12 Tropfen einer 20% Kalilauge dem Wasser zufügen.

## Gram'sche Methode.

Die *Gram*'sche Methode eignet sich für Schnitte in hohem Grade; sie werden in Anilinwassergentianaviolett gefärbt und der Einwirkung des Farbstoffes durch 10—30 Minuten ausgesetzt; durch Erwärmung kann die Zeit der Färbung abgekürzt werden. Nach der Färbung werden die Schnitte in Wasser abgespült und für 2 bis 3 Minuten in Jodjodkaliumlösung gebracht; das Präparat wird nun in 90procentigem Alkohol so lange hin- und herbewegt, bis kein Farbstoff mehr abgegeben wird. Dann werden die Schnitte, die nun schiefergrau erscheinen, in absoluten Alkohol, Cedernöl und Canadabalsam gebracht. Die Bakterien erscheinen violett auf gelblichem Grunde. Eine Nachfärbung mit Pikrocarmin oder Magdalaroth lässt die violette Färbung der Mikroorganismen gegenüber der rothen Farbe des Gewebes sich deutlicher abheben.

Man kann die *Gram*'sche Methode auch umkehren; der Schnitt wird durch 15 Minuten in Pikrocarmin oder Magdalaroth gefärbt, in 50procentigem Alkohol abgespült und dann in Anilinwassergentianaviolett gelegt; nach der Entfärbung in Jodjodkaliumlösung wird das Präparat mit Alkohol, Oel und Canadabalsam behandelt.

Die *Günther*'sche Modification, die sich dadurch charakterisiert, dass die Schnitte nach der Entfärbung in Alkohol der Einwirkung eines 3procentigen Salzsäurealkohols ausgesetzt werden, liefert ausgezeichnete Resultate (vergl. pag. 54).

## Kühne's Modification des Gram'schen Verfahrens.

Die *Gram*'sche Methode hat in ihrer Anwendung für Schnitte noch manche andere Modificationen erlitten; namentlich hat *Kühne* eine Reihe von Methoden angegeben, deren wichtigste im Nachfolgenden angeführt werden.

Man bereitet sich eine Lösung von 1 Grm. Victoriablau in 50 Ccm. eines halbverdünnten Alkohols und versetzt sie zur Hälfte mit einer halbprocentigen wässerigen Lösung von kohlensaurem Ammoniak. Die Färbung dauert 1—5 Minuten; die Schnitte werden

in Jodjodkalium entfärbt und nach der *Gram*'schen Vorschrift weiter behandelt; nur wird zur Extraction des Farbstoffes anstatt des Alkohols Fluoresceinalkohol (1 Grm. Fluorescein auf 50 Ccm. absoluten Alkohols) verwendet.

Ein weiteres Verfahren besteht darin, dass man zu einer concentrierten wässerigen Violettlösung etwas Salzsäure (ein Tropfen auf 50 Grm. Wasser) zusetzt und die Schnitte darin färbt. Die übrige Behandlung der Schnitte gleicht dem *Gram*'schen Verfahren.

Bei der Anwendung von Carbolmethylenblau werden die Schnitte durch eine halbe bis zwei Stunden gefärbt, in einem mit Salzsäure versetzten Wasser abgespült und durch eine schwache wässerige Lösung von kohlensaurem Lithion durchgezogen, darauf in absoluten, mit etwas Methylenblau versetzten Alkohol und in Methylenblauanilinöl übertragen. Nach Abspülung in reinem Anilinöl werden sie in einem ätherischen Oel aufgehellt, durch Xylol entölt und in Canadabalsam eingeschlossen.

*Pregl* empfiehlt eine Modification der Carbolmethylenblaumethode, die darin besteht, dass die auf dem Objectträger oder Deckgläschen aufgeklebten Schnitte durch $^1/_2$—1 Minute in Carbolmethylenblau gefärbt, in Wasser durch kurze Zeit abgespült, in 50procentigem Alkohol entfärbt, in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt und in Harz eingeschlossen werden.

Eine weitere, leicht anwendbare Methode besteht darin, dass man die Schnitte in Carbolfuchsin durch 3—5 Minuten färbt, in Wasser abspült, durch Alkohol durchzieht und in Methylgrünanilinöl für $^1/_4$—2 Stunden zur Entfärbung und Differenzierung gelegt; nach der Aufhellung durch ein ätherisches Oel werden sie durch Xylol entölt und in Canadabalsam eingedeckt.

Bei der Fluoresceinnelkenölmethode werden die Schnitte auf 5—10 Minuten in einer concentrirten wässerigen Oxalsäurelösung gebeizt, in Wasser abgespült und in Alkohol entwässert; die Färbung erfolgt mittelst Fuchsinanilinwassers oder mittelst einer Lösung von Methylenblau in einer $^1/_2$- bis 1procentigen wässerigen Ammoniumcarbonatlösung. Zur Entwässerung bringt man die Schnitte für 5—10 Minuten in absoluten Alkohol, dem etwas Fuchsin, beziehungsweise Methylenblau zugesetzt wurde; die Differenzierung geschieht durch Fluoresceinnelkenöl, worauf sie in einem ätherischen Oel aufgehellt, in Xylol entölt und in Canadabalsam eingeschlossen werden. Schnitte, die in Methylenblau gefärbt wurden, werden aus dem Fluoresceinnelkenöl in Eosinnelkenöl und dann erst in das ätherische Oel gebracht.

## Kühne's Trockenmethode.

Man versetzt eine 1procentige Lösung von Ammoniumcarbonat mit einer concentrierten, wässerigen Methylenblaulösung und lässt sie durch 10—15 Minuten auf die Schnitte einwirken; diese werden in Wasser abgespült und in salzsäurehältigem Wasser entfärbt, nochmals in Wasser ausgewaschen, auf dem Objectträger getrocknet, in Xylol aufgehellt und in Canadabalsam eingeschlossen.

## Weigert'sche Jodmethode.

Nach *Weigert* werden die Schnitte in Gentianaviolettanilinwasser gefärbt, in Kochsalzlösung abgespült, auf den Objectträger gebracht, abgetrocknet und mit Jodlösung beträufelt; darauf wird das Präparat wieder abgetrocknet und Anilinöl darauf gebracht, das mehrmals erneuert wird. Das Anilinöl wird nun durch Xylol entfernt und der Schnitt in Canadabalsam eingeschlossen.

Eine Verbindung der *Weigert*'schen mit der *Kühne*'schen Violettmethode (siehe pag. 62) besteht darin, dass die Schnitte in einer concentrierten wässerigen Violettlösung gefärbt werden, die mit Salzsäure (1 Tropfen auf 50 Grm. Wasser) versetzt ist; nach der Färbung werden die Schnitte im Wasser abgespült, in Jodjodkalium entfärbt, in absoluten Alkohol gebracht, mit Anilinöl und mit Xylol behandelt und in Canadabalsam conserviert.

## Unna's Boraxmethylenblaumethode.

Besonders für die Tuberkel- und Leprabacillen empfiehlt sich eine Behandlung der Schnitte mit wässerigem Boraxmethylenblau durch 5 Minuten, worauf sie auf weitere 5 Minuten in eine 5procentige Jodkaliumlösung übertragen werden, der ein Jodkrystall zugesetzt ist; die Abspülung erfolgt in Alkohol bis zur Abgabe einer blauen Wolke und die Differenzierung in Kreosot, je nach der Intensität der Färbung, durch einige Secunden bis zu einer halben Minute. Die Schnitte werden sodann in rectificiertes Terpentinöl übertragen, in dem die bläuliche Farbe sofort in Roth oder Braun übergeht, und in einer Lösung von Colophonium in Terpentinöl eingeschlossen.

## Unna's Methode zum Nachweise der Hautorganismen.

Zur Färbung der Mikroorganismen in Furunkeln und Abscessen der Haut hat *Unna* etliche Methoden angegeben, welche auch zum Nachweise der Mikroorganismen des Eiters dienen können. Bei allen diesen Methoden werden die Schnitte in Carmin vorgefärbt und durch zwei Minuten mit Boraxmethylenblau (Methylenblau und Borax je ein Theil in 100 Theilen Wasser) behandelt. Die Schnitte werden nach der Färbung in Wasser abgespült und kommen auf einige Secunden in eine 1procentige wässerige Lösung von Arsensäure, dann in Alkohol, in Bergamottöl und Balsam.

Nach einer zweiten Methode bringt man die mit Carmin und Methylenblau vorgefärbten Schnitte auf eine halbe Minute in Eisensulfat, dann in Alkohol, dann auf $^1/_2$—2 Minuten in Kalioxalat und endlich in Alkohol, Bergamottöl und Balsam.

Bei der Seifenmethode kommen die vorgefärbten Schnitte in Alkohol, dem einige Tropfen Spiritus saponatus kalinus zugesetzt sind, darauf in reinen Alkohol, Bergamottöl und Balsam. — Die Chrommethode besteht darin, dass die vorgefärbten Schnitte in eine 1procentige Lösung von Kalium bichromicum getaucht, in

Alkohol abgespült und auf längere Zeit in Anilinöl gebracht werden, weiter aus dem Anilinöl in Bergamottöl und Balsam.

## Noniewicz'sche Methode.

*Noniewicz* combinierte die *Löffler*'sche und *Unna*'sche Färbungsmethode zum Nachweise der Rotzbacillen. Man bringt die Schnitte aus Alkohol auf 2—5 Minuten in Methylenblau, spült in Wasser ab und entfärbt in einer Mischung aus 75 Theilen einer halbprocentigen Essigsäure und 25 Theilen eines halbprocentigen wässerigen Tropäolins. Dünne Schnitte werden nur rasch untergetaucht, dickere können 2—5 Secunden und länger darin bleiben. Nachdem sie in Wasser ausgewaschen sind, werden sie auf dem Objectträger ausgebreitet, an der Luft oder über der Flamme getrocknet, zur Aufhellung in Xylol gelegt und in Canadabalsam eingeschlossen.

# Thierversuch.

Bisher wurde eine Reihe von Untersuchungsverfahren beschrieben, die zur Diagnose der Bakterien nöthig sind. Die Beobachtung der Mikroorganismen im frischen Zustande, in ihrem Wachsthum auf verschiedenen Nährmaterialien und in ihrem Verhalten zu den Farbstoffen bilden zusammen jene Methoden, welche die Mikroorganismen in den Geweben und Flüssigkeiten des menschlichen Körpers und ausserhalb desselben nachweisen lassen.

Es erübrigt uns noch, jene Methoden kurz anzuführen, welche dazu dienen, die Bedeutung der verschiedenen Mikroorganismen für den menschlichen Körper festzustellen, also durch das Experiment ihre Pathogenie zu erkennen.

Man unterscheidet bekanntlich unter den Mikroorganismen solche, welche auf den menschlichen und thierischen Körper eine specifische Schädigung üben, und solche, welchen diese Eigenschaft nicht zukommt, es sei denn, dass sie etwa durch ihre Mengen Störungen verschiedener Art veranlassen können. Erstere werden als Parasiten, letztere als Saprophyten bezeichnet.

Um nun die Mikroorganismen auf ihre Pathogenie zu untersuchen, müssen Uebertragungsversuche auf Thiere vorgenommen werden, wozu man Affen, Hunde, Katzen, Igel, Kaninchen, Meerschweinchen, weisse Mäuse, Ratten, Ziesel, Hühner, Tauben oder oder auch Frösche (bei Aufenthalt in höheren Temperaturen) verwendet.

Die Uebertragung kann leicht auf die Hautoberfläche oder auf die Schleimhäute von leicht zugänglichen Höhlen erfolgen; auf letzteren ist sogar der Versuch häufig von besserem Erfolge begleitet als die Uebertragung in kleine Verletzungen der Haut. Man hat nur dafür zu sorgen, dass die Thiere nicht in die Lage kommen, die eingeführten Mikroorganismen zu entfernen. Ob durch die unversehrten Epithelialgebilde der Haut die Infection erfolgen kann, ist noch nicht endgiltig entschieden.

## Infection durch die Luftwege.

Durch den Athmungstract kann die Aufnahme leicht erfolgen; an der inneren Oberfläche der Lunge scheint überhaupt eine

Infection leicht eintreten zu können; auch der Feuchtigkeitsgrad an der ganzen Oberfläche trägt wesentlich dazu bei, dass die Mikroorganismen fixiert werden und sich entwickeln können. Um künstlich auf dem Wege der Athmung zu inficieren, wird ein Sprayapparat benützt, durch den die in Bouillon suspendierten Mikroorganismen in Form eines Sprühregens in die Respirationswege gelangen. Es ist aber nicht leicht zu verhindern, dass nicht gleichzeitig eine andere Infection statthat. Dabei können nämlich die Infectionsträger auch durch Schlucken in den Darmcanal oder auf die Haut gelangen. Um dies hintanzuhalten, wird mittels eines Rohres der ausserordentlich feine Nebel in einen geschlossenen Kasten gebracht, in dem sich das Versuchsthier befindet; dabei kann das Thier die im Luftraume des Kastens befindlichen Mikroorganismen frei einathmen.

## Infection durch die Verdauungswege.

Die Infection durch den Darmtract wird durch Fütterung oder direct durch Einführung einer Schlundsonde versucht; man kann auch durch Anlegung einer Magen- oder Darmfistel Mikroorganismen einführen. Am besten ist es, Kartoffelstückchen auszuhöhlen, sie mit der Bakteriencultur zu füllen und Thieren so weit in den Rachen zu schieben, dass sie sie verschlucken müssen. Flüssige Infectionsstoffe bringt man den Thieren mittelst Schlundsonden bei, die man Kaninchen durch die Zahnlücke, Meerschweinchen durch einen kleinen, durchbohrten, zwischen die Schneidezähne geklemmten Knebel in die Speiseröhre einführt; als Schlundsonde benützt man einen weichen elastischen Katheter. Wenn man Thiere künstlich inficieren mag, so beeinträchtigt häufig der saure Magensaft die Mikroorganismen in ihrer Lebensfähigkeit; es muss deshalb die Einführung der Mikroorganismen in den Darm erfolgen.

*Nicati* und *Rietsch* injicierten bei ihren Versuchen über Cholera die Infectionsflüssigkeiten direct in's Duodenum, zu dessen Freilegung sie unter strengster Antisepsis die Laparotomie machten. *Koch* empfahl folgendes Verfahren, um die schädliche Einwirkung des Magensaftes auf die Mikroorganismen auszuschalten:

Man bringt in den Mund des Thieres einen hölzernen Knebel, der in der Mitte durchbohrt ist, führt eine Sonde hindurch und injiciert 5 Ccm. einer Lösung von kohlensaurem Natron, um den sauren Magensaft zu neutralisieren. Hierauf wird dem Thiere auf je 200 Grm. Körpergewicht 1 Grm. einer Opiumtinctur subcutan injiciert, um das Thier in der Narkose zu erhalten. Mittels einer Schlundsonde wird eine Aufschwemmung von Cholerabacillen in Bouillon eingespritzt, womit der Versuch der Infection durch den Darmcanal beendet ist.

## Subcutane Infection.

Die Infection kann auch subcutan erfolgen, indem man mittels einer *Koch*'schen Infectionsspritze (Fig. 9) das Infectionsmaterial unter die Haut einbringt. Bei kleinen Thieren (weisse Mäuse) entfernt man am Rückentheile in der Nähe des Schwanzes sorgfältig die Haare, macht mit desinficierten Instrumenten (Pincette und Schere) einen

kleinen Einschnitt in die Haut und führt mit Hilfe einer ausgeglühten Platinöse den Infectionsstoff unter die Haut.

Aehnlich werden Uebertragungsversuche in den Peritoneal- und Pleuraraum oder in die Organe selbst vorgenommen.

## Intravenöse Infection.

Die intravenöse Infection erfolgt am bequemsten an einer oberflächlich gelegenen Halsvene oder durch Einstich in ein Ohrgefäss.

## Infection in die vordere Augenkammer.

Eine der schönsten Infectionsmethoden ist das Eintragen von Mikroorganismen in die vordere Augenkammer; dies geschieht durch Eröffnung der Augenkammer mittelst eines Lanzenmessers, indem man an der Grenze zwischen Cornea und Sclera einsticht; durch die so gesetzte Oeffnung bringt man das Infectionsmaterial in die vordere Augenkammer. Das abgeflossene Kammerwasser wird bald nach der Vernarbung der Wunde ersetzt. Man beobachtet dann durch die transparente Cornea die Vermehrung und die sichtbaren Eigenschaften der Mikroorganismen.

---

## Bakteriologische Analyse der Luft.

In der Luft sind Stäubchen organischer Substanzen enthalten, denen gewöhnlich auch ausgetrocknete Colonien von Mikroorganismen zuzuzählen sind. Sie können entweder von selbst durch die auf sie wirkende Schwerkraft niederfallen und so aufgefangen werden, oder man erhält sie durch Einleitung von Luftströmungen. In allen Fällen müssen sie auf einen geeigneten Nährboden übertragen werden, um zur Entwicklung zu kommen. In der Luft finden wir im allgemeinen Schimmelpilze, Hefe- und Bakterienkeime. Weit entfernt von den Küsten, auf hoher See, wird die Anzahl der Mikroorganismen bedeutend geringer; ebenso ist die Luft auf hohen Bergen fast keimfrei oder mindestens keimarm. In der Ebene hat man 100—500 lebensfähige Keime pro Cubikmeter gezählt. Die Luft der Wohnräume enthält sie in grösserer Zahl nur dann, wenn aus den Zwischenböden und Wandbekleidungen die Mikroorganismen aufgewirbelt werden; die Ablösung der Bakterien durch den Luftstrom erfolgt nur an trockenen Oberflächen.

Die einfachste Art der Luftuntersuchung besteht darin, dass man eine Platte mit Nährgelatine oder Nähragar an irgend einem Orte stehen lässt, bis eine bestimmte Zeit verstrichen ist; hierauf wird die Platte in eine feuchte Kammer gebracht und nach einigen Tagen bilden sich Inseln von Mikroorganismen; die Agarplatte kann auch in den Brutschrank gestellt werden, um die sich bei höherer Temperatur entwickelnden Mikroorganismen zu beobachten.

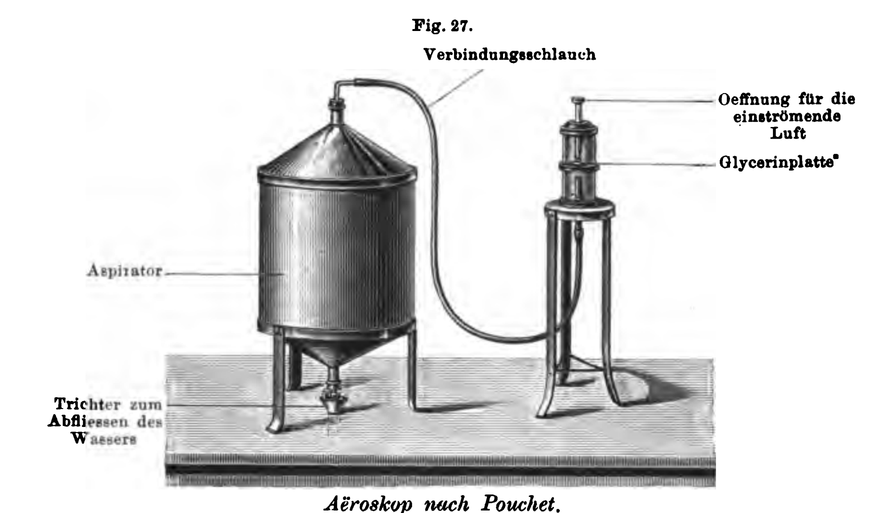
Die Methode kann dadurch vereinfacht werden, dass die Gelatine in Schalen ausgegossen wird, die nach dem Auffangen der Keime aus der Luft verschlossen aufbewahrt werden.

Solche Schalen können in einem cylinderförmigen Glasgefässe, dessen Luftvolumen bekannt ist, aufgestellt werden; nach einer bestimmten Zeit kann der Process abgeschlossen und die Schalen mit der Gelatine zur Entwicklung der Organismen weggestellt werden; dadurch, dass das Volumen der Luft und die Zeit der Aussetzung bekannt ist, kann man ein annäherndes Urtheil über die Zahl der in der Luft enthaltenen Mikroorganismen gewinnen.

## Verfahren nach Pouchet.

*Pouchet* bediente sich zur Untersuchung des Luftstaubes eines Glascylinders (Aëroskop), der durch einen Deckel mittels einer Schraube und einer Klemme luftdicht verschliessbar ist. Der Cylinder steht senkrecht auf einem Stativ und ist oben und unten durchbohrt. Die obere Oeffnung trägt ein Glasrohr mit einer sehr engen Ausflussöffnung, die untere Oeffnung ein Rohr, das durch einen Gummischlauch mit einem Aspirator in Verbindung steht. In der Mitte des Cylinders befindet sich ein Tischchen, das ein mit Glycerin überstrichenes Glasplättchen trägt; bei der Thätigkeit des Aspirators strömt durch die obere Oeffnung Luft ein, welche an das Glycerin den grössten Theil ihrer staubförmigen Bestandtheile abgibt. Das Glycerinpräparat wird dann aus dem Cylinder entfernt und untersucht. Man vertheilt den Staub durch Verrühren mit einer sterilisierten Stahlnadel im Glycerin möglichst gleichmässig, bedeckt die Glasplatte mit einer zweiten und

Fig. 27.




*Aëroskop nach Pouchet.*

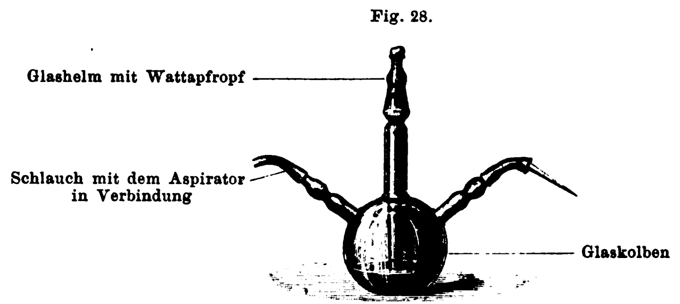
bringt sie unter das Mikroskop. Um den Staubgehalt von einem Liter Luft zu berechnen, bestimmt man durch Abzählen einiger Gesichtsfelder den durchschnittlichen Stäubchengehalt eines jeden, hieraus wird die auf der ganzen Platte abgelagerte Zahl und aus dieser der Gehalt von einem Liter Luft berechnet. Statt der Glycerinplatte kann man eine Gelatineplatte oder eine Agarplatte auf das Tischchen legen und so die Mikroorganismen zu isolieren versuchen (Fig. 27).

## Verfahren nach Miquel.

*Miquel* construierte einen Kolben mit zwei seitlichen Röhren und einer in die obere Oeffnung eingeschliffenen Röhre, welche einen Glashelm mit einem Wattapfropf trägt; von den seitlichen Röhren steht die eine mit einem Aspirator, die andere mittels eines Gummi-

schlauches mit einem engen, am Ende zugeschmolzenen Glasrohr in Verbindung. Der Kolben wird mit 30—40 Ccm. Wasser gefüllt und im strömenden Wasserdampf sterilisiert; dann wird der Glashelm abgenommen und eine bestimmte Menge Luft durchgesaugt; nun wird der Helm wieder aufgesetzt, durch Einblasen von Luft durch

Fig. 28.



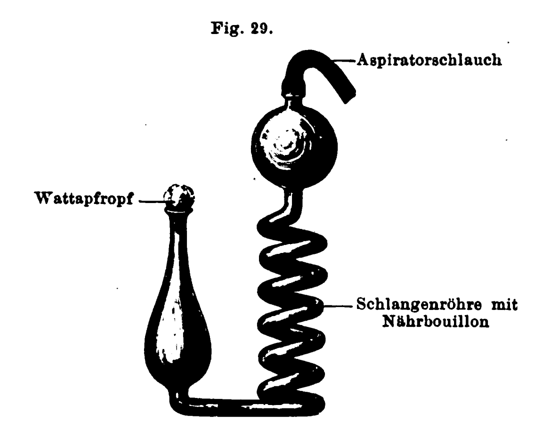

*Luftuntersuchungsapparat nach Miquel.*

die mit dem Aspirator verbundene seitliche Röhre die Flüssigkeit in der senkrechten Röhre emporgetrieben und so diese Röhre ausgewaschen; schliesslich wird die Spitze der Glasröhre an der anderen Seite abgebrochen und die im Kolben enthaltene Flüssigkeit in Bouillonröhrchen vertheilt (Fig. 28).

## Verfahren nach Emmerich.

In dem von *Emmerich* angegebenen Apparate zur bakteriologischen Luftuntersuchung wird die Luft durch eine mit der Nähr-

Fig. 29.




bouillon gefüllte Schlangenröhre (Fig. 29) langsam durchgesogen und werden so die Keime zurückgehalten.

## Verfahren nach Welz.

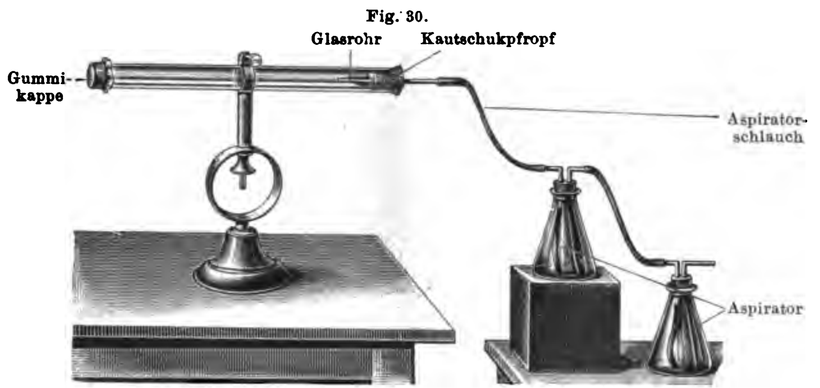
Zwei kleine Fläschchen, das eine als Auffang-, das andere als Controlflasche, werden mit je 20 Ccm. einer neutralen Flüssigkeit

aus gleichen Theilen Glycerin, Bouillon und Wasser beschickt und mit einander durch eine zweimal rechtwinkelig gebogene Glasröhre verbunden; der längere Schenkel der Verbindungsröhre reicht bis an den Boden der Controlflasche, der kürzere nur bis unterhalb des Stopfens der Auffangflasche. Zur Aspiration der Luft dienen zwei grosse Flaschen, die mit einander durch einen Gummischlauch verbunden sind; die eine Flasche ist mit Wasser gefüllt und mit der Controlflasche in Verbindung gesetzt; die leere Flasche steht niedriger als die mit Wasser gefüllte, so dass das Wasser in sie hineinzufliessen vermag; damit erfolgt die Aspiration eines der Wassermenge entsprechenden Luftvolumens in die Auffangflasche. Zur Regulierung des Wasserabflusses befinden sich in dem Gummischlauche, der die beiden Aspirationsflaschen verbindet, zwei zu engen Spitzen ausgezogene Glasröhrchen. Zur Aussaat wird 1 Ccm. der tüchtig gemischten Flüssigkeit in der Auffangflasche mittels einer keimfreien Pipette in 10 Ccm. Gelatine gebracht und auf Platten ausgegossen.

## Verfahren nach Hesse.

Dieses Verfahren besteht darin, dass man mit Hilfe eines kleinen Aspirators, der langsam arbeitet, die Luft durch eine desinficierte Röhre strömen lässt, deren Wandungen in ähnlicher Weise wie in den *Esmarch*'schen Rollculturen mit Gelatine überzogen sind. Die Röhre ist 70 Cm. lang und besitzt einen Durchmesser von 3—4 Cm.; sie ist horizontal gestellt und trägt auf der einen Seite eine mit einem centralen runden Ausschnitte versehene straffe Gummikappe, die mit einer zweiten, nicht eingeschnittenen Gummikappe überzogen werden kann. Das andere Ende ist durch einen Kautschukpfropf verschlossen, der durchbohrt ist und ein kleines, etwa 1 Cm. weites und 10 Cm. langes Glasrohr trägt, das mit dem Aspirator in Verbindung steht. Bei dem Aspirieren der Luft muss die undurchbohrte Kappe abgenommen werden. Als Aspirator dienen, wie beim Verfahren nach *Welz*, zwei Flaschen, von denen die eine mit Wasser gefüllt, die andere leer ist. Die Bakterien entwickeln sich besonders im vorderen Theile der Röhre, während die Pilzsporen, die mehr

Fig. 30.



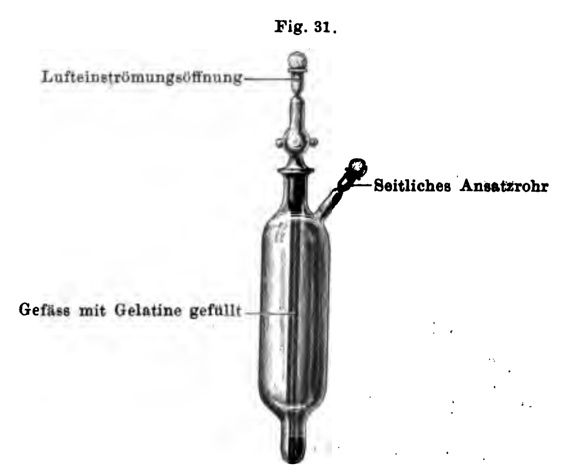

*Luftuntersuchungsapparat nach Hesse.*

isoliert und deshalb leichter sind, weiter fortgetragen und sich weiter innen in der Röhre entwickeln. Wird Luft von einem voraussichtlich geringen Keimgehalt (Luft im Freien bei Windstille) untersucht, so werden 10—20 Liter, bei voraussichtlich grossem Keimgehalte nur 1—5 Liter durchgeleitet. Der Abschluss der Durchleitung erfolgt durch das Aufsetzen der undurchbohrten Gummikappe. Nach einigen Tagen zeigt sich die Gelatine mit Inseln bedeckt, welche durch ihre Form, ihre Farbe und durch den Einfluss auf die Gelatine (Verflüssigung) von einander unterschieden werden können; durch weitere Uebertragung auf Culturplatten lassen sich die Keime isolieren und der mikroskopischen Untersuchung zuführen (Fig. 30).

## Verfahren nach Straus und Würz.

In ein mit flüssiger Gelatine gefülltes Glas wird mittels eines seitlichen, mit einem Aspirator verbundenen Ansatzrohres Luft eingeleitet. Man prüft eine grössere Menge Luft durch (100—200 Liter);

Fig. 31.




*Luftuntersuchungsapparat nach Straus und Würz.*

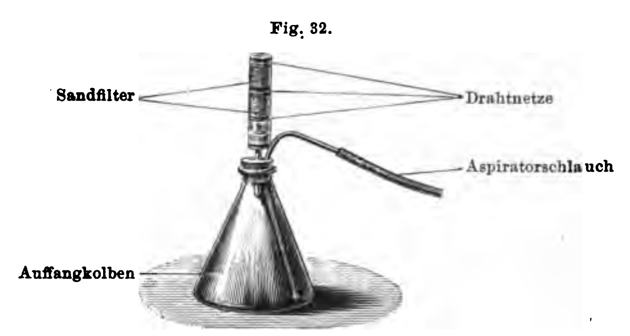
nach Abschluss der Aspirierung wird die Gelatine auf Platten ausgegossen oder im Gefäss selbst nach der *Esmarch*'schen Methode zu einer Rollcultur verwendet (Fig. 31).

## Verfahren nach Petri.

Man stellt ein Sandfilter her und sterilisiert es sorgfältig. Das Filter besteht aus einem Röhrchen von 8—9 Cm. Länge und 1·5 Cm. Durchmesser; in dieses Röhrchen wird Sand eingetragen, nachdem das Ende mit einem Drahtnetze verschlossen wurde; ist der Sand in einer Schichte von 3 Cm. Länge eingetragen, so wird wieder ein Drahtnetz eingelegt; das Rohr wird nun mit zwei Sandfiltern versehen, die durch Drahtnetze zusammengehalten werden. Am besten ist Quarzsand, dessen Körner je $^1/_4$—$^1/_2$ Mm. gross sind. Man leitet durch eine Wasserstrahlluftpumpe ungefähr 50—100 Liter durch, so dass etwa

10 Liter in der Minute durchgesaugt werden. Die Quantität wird mittels einer Gasuhr bestimmt. Nach Abschluss der Luftdurchleitung wird jedes Sandfilter für sich in mehrere Glasschälchen vertheilt, die mit Nährgelatine oder einem anderen festen Nährboden beschickt sind. Das zweite Filter soll keimfrei sein (Fig. 32).

Fig. 32.




*Sandfilterapparat nach Petri.*

An Stelle des Sandes verwendet *Miquel* gepulvertes schwefelsaures Natron zum Aufsaugen der Keime.

## Verfahren von Tyndall.

Anstatt der aus pulverförmigen Substanzen bestehenden Luftfilter wird sterilisierte Watta zum Aufsaugen der Mikroorganismen verwendet; man überträgt sie dann in Gelatine und giesst diese zu Plattenculturen aus.

An Stelle der Watta bringt *Frankland* Glaswolle zur Verwendung.

Mit Hilfe dieser Methoden findet man Pilze, Hefezellen, Mikrokokken, Bacillen und Spirillen, die in der Luft in mehr oder minder grosser Menge enthalten sind. Sie sind aber nicht an allen Stellen der Erdoberfläche und zu allen Zeiten quantitativ und qualitativ gleich vertheilt.

So z. B. fand ich in den Alpen (Hollenegg, Steiermark) im Monate September 1891 auf einem Kleisternährboden den Micrococcus prodigiosus reichlich wachsend, während in den Monaten Juli und August desselben Jahres sich von diesem keine merkliche Spur zeigte.

## Penicillium glaucum.

Das Penicillium glaucum (Pinselschimmel) wächst in Form von Wattaflöckchen und bildet bei der Sporenbildung einen grünen, eigenthümlich dumpf riechenden Rasen; sein Mycel besteht aus horizontal angeordneten, geraden oder leicht gewellten, gegliederten Fäden, von denen die Fruchthyphen senkrecht aufsteigen und sich am oberen Ende gabelig theilen (Basidien); von diesen zweigen feine Ausläufer (Sterigmen) pinselförmig ab und gliedern sich an ihrem Ende in Reihen feiner Kügelchen (Sporen oder Conidien), deren Masse dem Rasen die grüne Farbe verleiht

(siehe Fig. 4). Besonders geeignet zum Wachsthum des Pinselschimmels ist der sterilisierte Brotbrei, auf dem ein anfangs weisser, später schön grün werdender Rasen entsteht. Uebrigens gedeiht er allerorts, wo nur überhaupt Schimmel sich entwickeln kann. Die Gelatine wird verflüssigt. Nach *Wiesner* erfolgt das Mycelwachsthum sehr gut bei einer Temperatur von 26°; die Sporenbildung geht am besten bei 22° C. vor sich.

Die Pilze erscheinen auf den Plattenculturen anfangs als Fäden, die von einem Punkte ausgehen und keine scharf begrenzten, dunklen Inseln auf der Gelatine bilden, sondern sich strahlig auf einer grösseren Fläche ausbreiten. Die sporentragenden Hyphen, die über das Niveau der Gelatine frei hinausragen, werden durch Luftströmungen (leichtes Blasen über die Plattencultur) in Bewegung versetzt. Man kann hierbei leicht das Abfallen der Sporen beobachten. Die erste Sporenbildung tritt in der Mitte der Colonien auf und zeigt sich durch eine Grünfärbung.

Mit dem *Löffler*'schen Methylenblau werden die Mycelfäden und Hyphen gefärbt, dagegen bleiben die Sporen ungefärbt. Die Schimmelpilze können mit Wasser nicht leicht benetzt werden, da ihre Oberfläche wegen eines leichten Fettüberzuges zum Wasser keine Anziehungsfähigkeit besitzt. Man verfährt daher in der Weise, dass man die ungefärbten Pilze zuerst mit Alkohol behandelt, dem etwas Ammoniak zugesetzt ist und dann in Glycerinwasser oder reinem Glycerin untersucht. Zur Aufbewahrung eignet sich Glycerin oder Glyceringelatine; das Deckgläschen wird mit einem in Terpentin auf dem Wasserbade aufgelösten Asphaltlack umrandet.

Um bei der Züchtung der Schimmelpilze auf Gelatine Bakterien fernzuhalten, empfiehlt *Hansen* den Zusatz von 0·1—0·2 Procent Salzsäure.

## Brauner Schimmelpilz.

Der Rasen des von *Hesse* beschriebenen braunen Schimmelpilzes ist braungelb und unterscheidet sich ausserdem vom Pinselschimmel durch ein dichtverfilztes Mycel; die Hyphen sind spärlich, verästelt und gegliedert. Die Gelatine wird rasch verflüssigt; in Stichculturen erweicht die Gelatine mit dem Pilzmycel zu einer braunen, zähen, fadenziehenden Masse. Das Wachsthum erfolgt am besten bei 15—20°. Nach *Trelease* ist er mit einer im Wasser sehr häufigen Alge (Cladothrix dichotoma) identisch.

## Hefe.

Die Hefe stellt Zellen und Zellverbindungen dar, deren Einzelelemente von ovaler Gestalt sind und sich durch Sprossung vermehren; sie besitzen eine dünne Membran und ein gekörntes, mit Vacuolen durchsetztes Protoplasma (siehe Fig. 6). Man gewinnt sie aus der Luft auf Gelatineplatten, Agarplatten und auf sterilisierten Kartoffeln. Sie wachsen auf der Gelatineplatte in Form runder, knopfartig erhabener Colonien, die wie Tropfen aussehen und die Gelatine nicht verflüssigen.

Die Rosahefe zeichnet sich durch die Rosafarbe des Rasens aus. Auf Gelatineplatten erscheinen kleine runde Colonien von gröberer Körnung mit Rosafarbe. In Stichculturen erscheint nach acht Tagen ein mattglänzender, wachstropfenähnlicher Belag, der langsam an Umfang zunimmt und erhabene Ränder zeigt. Längs des Stiches tritt eine Reihe kleiner Pünktchen auf. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Agar wächst ein unregelmässiger, schleimiger, dünner, rosafarbener Rasen, auf Kartoffeln ein schöner, rosarother Belag.

Die schwarze Hefe und die weisse Hefe unterscheiden sich nur durch die Farbe des Rasens.

Die Hefe gedeiht bei Zimmertemperatur. Die mit Anilinfarbstoffen gefärbten Zellen schrumpfen theilweise und bieten nicht jene schönen Bilder, die bei der Untersuchung in ungefärbtem Zustande auftreten. Sie sind durch ihre auffallende Grösse (1·5—3 μ lang, 2 μ breit) leicht von den Kokken zu unterscheiden.

## Micrococcus radiatus.

Der von *Flügge* isolierte Micrococcus radiatus bildet kleine Kokken in kurzen Ketten oder Haufen; Anfangs treten auf der Gelatineplatte kleine, gelblichbraune Colonien auf, die in radiärer Richtung Auswüchse bekommen und bei der Stichcultur zeigen sich von den Centren des Stiches Strahlen in horizontaler Richtung, so dass der Stich nahezu ein gefiedertes Aussehen bekommt. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Auf Kartoffeln entstehen gelblich gefärbte Colonien.

## Micrococcus versicolor.

Dieser ebenfalls von *Flügge* aufgefundene, durch den Perlmutterschiller seiner Colonien ausgezeichnete Mikroorganismus bildet kleine Häufchen von Kokken, die schon am ersten Tage als runde, weisse Punkte auf der Gelatineplatte erscheinen, nach einigen Tagen gelblichbraun werden und bei einer gewissen Stellung der Platte perlmutterartig schillern. Letztere Erscheinung zeigt sich sowohl auf der Oberfläche der Stichcultur, als auch an der Strichcultur auf Agar. Der Perlmutterschiller schlägt zuweilen in's Gelbgrüne. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

## Micrococcus cinabareus.

Der durch die Zinnoberfarbe seiner Colonien bemerkenswerthe Micrococcus cinabareus *(Flügge)* bildet Diplokokken. Die Inseln auf der Gelatineplatte treten erst nach 4—6 Tagen auf und erscheinen rothbraun. Die Farbe geht allmälig in's Zinnoberroth über. Auch die Stichcultur zeigt an der Oberfläche die Farbe, indem hier ein rother Knopf erscheint, von dem ein weisser Streifen in die Gelatine hinabreicht; die Gelatine wird nicht verflüssigt.

## Micrococcus flavus tardigradus.

Der Micrococcus flavus tardigradus *(Flügge)* erscheint in grossen Einzelelementen und bildet Colonien, welche nach 6 bis 8 Tagen gelblich werden. Im Stichcanale entwickeln sich isolierte, nicht an einander hängende, gelbliche Kugeln. Er ist durch seinen gelben Farbstoff ausgezeichnet; die Gelatine wird nicht verflüssigt.

## Micrococcus candicans.

Der Micrococcus candicans *(Flügge)* erscheint oft als Verunreinigung auf den Gelatineplatten; seine Colonien sind weiss und in der Mitte dunkler und gegen den Rand heller; die Stichculturen erscheinen nagelförmig mit knopfartiger Erhebung. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

## Micrococcus viticulosus.

Dieser durch die Rankenform seiner Colonien besonders charakterisierte, von *Katz* beschriebene Mikroorganismus besteht aus ovalen Elementen; auf der Gelatineplatte entstehen oberflächliche und tiefe Colonien, von denen seitliche Ausläufer in Form von feinen, rankenähnlichen Zügen ausgehen. In der Stichcultur wächst er längs des Stichcanales, von wo aus gleichfalls zarte Fadennetze gegen die Tiefe ausgehen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

## Micrococcus ureae.

Der Micrococcus ureae ist ein die Gelatine nicht verflüssigender Mikroorganismus, der in der Luft vorkommt, aber auch aus zersetztem, ammoniakalischem Harn gewonnen werden kann. Er wurde von *Pasteur* und *van Tieghem* beschrieben. Die Kokken sind meistens zu Diplokokken geordnet und zeigen nach längerem Wachsthume auf der Gelatine eine grössere Insel, die einem auf der Ober-

Fig. 33.



*Micrococcus ureae (nach Jaksch).*

fläche der Gelatine erstarrten Stearintropfen ähnlich, über die Oberfläche derselben erhaben ist und einen kleisterähnlichen Geruch verbreitet. Er verursacht im Harn Gährungsprocesse in Folge seiner Fähigkeit, Harnstoff in kohlensaures Ammoniak umzusetzen. Er gedeiht bei Zimmertemperatur, am besten bei 30° C. Auch bei Temperaturen unter 0° verliert er seine Entwicklungsfähigkeit nicht (Fig. 33).

## Micrococcus roseus.

Der Micrococcus roseus ist ein von *Bumm* in der Luft gefundener Mikrococcus der gonorrhoischen Schleimhauterkrankungen, der zu zweien angeordnet und unbeweglich ist; die beiden Hälften dieser Diplokokken sind halbkugelförmig und durch einen Spalt von einander getrennt. Seine kleinen Colonien auf der Gelatineplatte sind rosaroth und über das Niveau erhaben. Die Stichcultur in der Gelatine zeigt erst nach langer Zeit eine Verflüssigung, wobei in der Tiefe des Stichcanales eine rosarothe Farbe auftritt.

## Diplococcus citreus conglomeratus.

Dieser Mikroorganismus wurde von *Bumm* im Luftstaube gefunden und dringt wahrscheinlich in den menschlichen Organismus mit dem Staube ein. Seine Elemente sind unbeweglich, zuweilen zu zweien, zuweilen zu vieren angeordnet. Sie bilden auf der Gelatineplatte kleine längliche Inseln, die bald rissig werden und eine citronengelbe Farbe besitzen; die Stichcultur verflüssigt die Gelatine langsam; in der Tiefe findet sich eine gelbe Masse. Strichculturen auf Agar stellen einen citronengelben, später bräunlich werdenden Belag dar.

## Micrococcus flavus liquefaciens und Micrococcus desidens.

Beide wurden von *Flügge* beschrieben; ersterer hat grössere, letzterer kleine Elemente, häufig zu Diplokokken geordnet; beide bilden auf Kartoffelscheiben gelblich gefärbte Auflagerungen. Auf Gelatineplatten entstehen kleine, runde, gelbliche Inseln, die nach ein bis zwei Tagen die Gelatine zu verflüssigen beginnen. Die Stichculturen verflüssigen nach einigen Tagen, bei dem Micrococcus liquefaciens früher als bei dem Micrococcus desidens; wenn sich im Verflüssigungstrichter die Elemente gesenkt haben, tritt in der Tiefe eine schwache Gelbfärbung auf.

## Sarcina alba.

Die Sarcina alba wächst auf der Gelatineplatte langsam in kleinen, runden, weissen Colonien, ebenso längs des Stichcanales in der Eprouvette, auf der Oberfläche ein weisses Köpfchen bildend. Auch auf Kartoffeln wächst sie sehr langsam in Form eines weissgelben Belages um die Impfstelle. Die Gelatine wird ganz langsam und nur sehr wenig verflüssigt.

## Sarcina candida.

Die von *Reinke* in Brauereien gefundene Sarcina candida zeigt auf Gelatine glänzend weisse, später gelbliche Colonien, die sehr bald verflüssigen. Auf Agar erscheint ein weisser Belag mit glatten Rändern.

## Sarcina aurantiaca.

Auf der Gelatineplatte erscheinen kleine, glattgerandete Colonien, welche bei schwacher Vergrösserung ein punktiertes, körniges Aussehen zeigen und orangegelb gefärbt sind. Die Stichculturen verflüssigen langsam längs des ganzen Impfstiches und scheiden an der Oberfläche orangegelben Farbstoff aus; bei längerem Stehen sinkt die Hauptmasse zu Boden und klärt sich in den oberen Theilen des Nährbodens. Auch die Agarculturen zeigen einen schönen, goldgelben, glänzenden Ueberzug. Auf Kartoffeln wächst die Sarcine sehr langsam. Die Gelatine wird wenig verflüssigt. Der goldgelbe Farbstoff wird durch Schwefelsäure blaugrün und durch Natronlauge roth.

## Sarcina rosea.

Die von *Schröter* aufgefundene Sarcina rosea wächst auf Gelatine sehr schnell, auf Agar langsam und bildet knorpelartige Häufchen; auf Kartoffeln entsteht ein kräftiger, intensiv rother Belag. In Bouillon ist die Vermehrung ausserordentlich schnell unter Entwicklung eines rothen Sedimentes. Die Gelatine wird sehr schnell verflüssigt. Der rothe Farbstoff zeigt dieselben chemischen Reactionen wie der Farbstoff der Sarcina aurantiaca.

## Sarcina lutea.

Die von *Schröter* beschriebene Sarcina lutea wächst auf Gelatineplatten sehr langsam und bildet kleine, rundliche Colonien. In ausgiebiger Weise entsteht an der Oberfläche eine geringe Auflagerung, die sich in die Tiefe über eine kurze Strecke in Gestalt gelber Körnchen fortsetzt. Auf Agar erscheint ein dicklicher, schön gelber Belag. Die Culturen auf Kartoffeln sind schwefelgelb und auf die Impfstelle beschränkt. Die Gelatine wird zuweilen langsam verflüssigt.

## Staphylokokken.

Der Staphylococcus pyogenes wurde von *Rosenbach*, von *Ogston* und von *Passet* genau beschrieben. Er zeichnet sich dadurch aus, dass er die Eiterung erregt und geradezu als specifischer Eitercoccus bezeichnet werden kann, da er bei den Eiterungsprocessen constant aufgefunden wird. Man unterscheidet nach der Farbe der Colonien einen Staphylococcus pyogenes aureus, einen Staphylococcus pyogenes albus und einen Staphylococcus pyogenes citreus. Nur selten wird bei der Analyse der Luft eine Plattencultur ohne Staphylokokken gewonnen.

Nach *E. Ullmann* finden sich die Staphylokokken in der Luft von viel benützten Räumen in bedeutend grösserer Zahl als in Räumlichkeiten, die von Menschen wenig benützt werden. *Ullmann* fand die Staphylokokken auch sonst in der Natur sehr verbreitet,

nicht blos in der Luft, sondern auch in Flusswasser, Regenwasser, aber nicht in Quellwasser, dann im Eise, in der Erde und an Mauern.

Fig. 34.



*Staphylococcus pyogenes aureus.*

Fig. 35.

Verflüssigter Theil

Angesammelte Bakterienmasse

Impfstich im nichtverflüssigten Theile

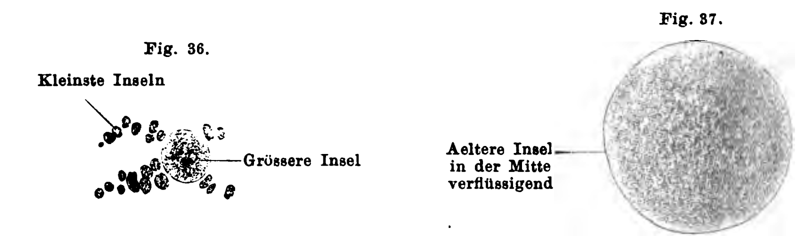
Verflüssigter Theil der Gelatine

Am Grunde des Verflüssigungstrichters angesammelte Bakterienmasse

*Gelatinestichcultur des Staphylococcus pyogenes aureus in zwei verschiedenen Formen.*

Es sind unbewegliche, kleine, rundliche Zellen, die das Bestreben haben, sich besonders innerhalb der Gewebe zu einzelnen dichtbeerigen Haufen zu ordnen (Fig. 34). Die nicht in Haufen zusammenliegenden Zellen besitzen eine ziemlich lebhafte Eigenbewegung. Die einzelnen Zellen nehmen die verschiedensten Anilinfarbstoffe auf, gedeihen schon bei Zimmertemperatur, lebhafter aber bei Wärmegraden, die der Eigenwärme des menschlichen Körpers nahekommen. Wenn man sie zu sterilisierter Milch hinzusetzt, so wird das Casein ausgefällt.

Der Staphylococcus pyogenes aureus gedeiht auf der Gelatineplatte bei gewöhnlicher Zimmertemperatur sehr rasch. so dass man schon am zweiten Tage kleine punktförmige Colonien sieht, welche rundlich sind und eine scharfe Umgrenzung besitzen Bald kommen sie gegen die Oberfläche und verflüssigen. Die Verflüssigung breitet sich nach der Peripherie aus und zeigt bald in der Mitte eine gelbliche Farbe (Fig. 36 und 37). In der Stichcultur beginnt die Gelatine am zweiten bis dritten Tage einer Verflüssigung zu unterliegen, die sich allmälig längs des Impfstriches tiefer fortsetzt; mit der Vergrösserung des Verflüssigungstrichters senken sich




*Inseln vom Staphylococcus pyogenes aureus auf der Gelatineplatte.*

die Kokken zu Boden und beginnen sich zu färben (Fig. 35). Wenn aber die Cultur nicht einer Zimmertemperatur, sondern einer höheren Temperatur ausgesetzt ist, so ist das Wachsthum zwar üppiger, die Farbe aber tritt nicht so schön auf als bei der Zimmertemperatur; dies gilt besonders für die Strichcultur auf Agar, wobei sich anfangs entlang des Striches eine dicke Säule bildet, die sich allmälig mehr ausbreitet, so dass ein ganzer Rasen von der charakteristisch gefärbten Cultur auf der Oberfläche des Agars auftritt.

Auf Kartoffeln entsteht anfangs ein weisslicher Belag, der sich später gelb oder orange färbt.

Die Staphylokokken gedeihen auch schön auf Blutserum, Kibitzeiweiss und Taubeneiweiss. Alle Staphylokokkenculturen entwickeln sehr bald einen starken Kleistergeruch, der bei zunehmendem Alter der Culturen einem Geruch nach saurer Milch weicht.

Wiederholt wurde mit den Staphylokokken eine erfolgreiche Infection vorgenommen; auf die Oberfläche von Wunden gebracht, erzeugen sie eine fortschreitende Eiterung; subcutane Injectionen erregen Abscesse und Injectionen in die Blutbahnen rufen Entzündungen der Gelenke, Abscesse in den Nieren und in der Musculatur des Herzens hervor. Auf erkrankten oder verletzten Herzklappen

veranlassen sie nach *Orth, Wyssokowitsch* und *Ribbert* eine Endocarditis ulcerosa. Alle diese Erscheinungen sind entweder dadurch bedingt, dass eine mechanische Verlegung von Gefässbezirken durch die Mikroorganismen eintritt, oder dass sich Stoffwechselproducte entwickeln, welche auf die Gewebe toxisch einwirken. Die Staphylokokken können sowohl von Wunden, als auch von Haarbälgen und von Ausführungsgängen der Hautdrüsen aus in das cutane und subcutane Gewebe eindringen.

Nur durch das Fehlen des Farbstoffes unterscheidet sich von diesem der Staphylococcus pyogenes albus, welcher weniger wirksam zu sein scheint und der Staphylococcus pyogenes citreus, der die Gelatine langsamer verflüssigt als die beiden anderen.

*Leber* isolierte aus den Culturen den wirksamen Bestandtheil in der Form eines krystallinischen Körpers, den er mit dem Namen Phlogosin bezeichnete, und der in geringer Menge injiciert zur Eiterung ohne Mikroorganismen führt. *Christmas* erhielt aus den Culturen einen pyogenen Körper in Form einer enzymartigen Substanz, die bei der Einbringung in die vordere Augenkammer eines Kaninchens eine Eiterung veranlasste. *E. Ullmann* erzeugte durch intravenöse Injection abgetödteter Culturen nach vorausgegangener Fractur eine Osteomyelitis.

## Streptokokken.

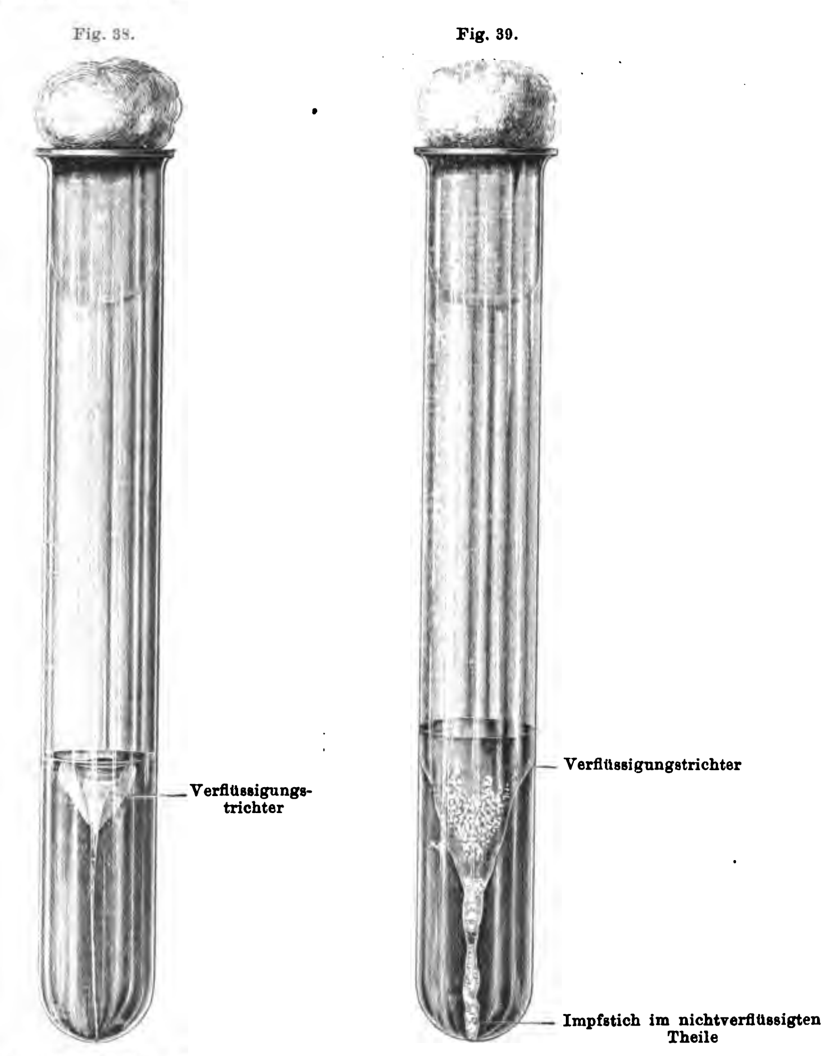
Es gelang *Emmerich* und *Hartmann*, aus der Luft einen Streptococcus zu isolieren, der, auf Kaninchen überimpft, ein typisches Erysipel erzeugt und deshalb als Streptococcus erysipelatis bezeichnet wird. Er wurde zuerst von *Fehleisen* rein gezüchtet. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte entstehen am dritten oder vierten Tage kleine Colonien in der Tiefe der Gelatine, die allmälig eine bräunliche Farbe annehmen. In der Stichcultur ist das Wachsthum an der Oberfläche sehr geringfügig; längs des Impfstiches entstehen sehr kleine, weisse, kugelrunde Colonien, die einen weissen Streifen bilden. Auf Agar entwickeln sich kleine, runde, von einander getrennte, Thauperlen ähnliche Colonien. Auf Kartoffeln erfolgt kein Wachsthum. Nach *Jordan, Fränkel* und *v. Eiselsberg* ist er mit dem Streptococcus pyogenes (s. pag. 141) identisch.

## Bacillus subtilis.

Der Bacillus subtilis, auch Heubacillus genannt, wurde von *Ehrenberg* beschrieben; er wird am leichtesten auf einem Heuinfus gewonnen, indem man Heu zerkleinert, in einem Kölbchen mit Wasser übergiesst und einmal aufkochen lässt, wobei die verschiedensten Mikroorganismen leicht getödtet werden und nur der Heubacillus in seiner Lebensfähigkeit nicht beeinträchtigt wird. Nach zwei bis drei Tagen bildet sich auf der Oberfläche ein dicker, weisslicher Belag, der eine Reincultur des Bacillus subtilis darstellt. Der Heubacillus zeigt sehr lange, feine, dünne Stäbchen, welche eine durch Geisselfäden vermittelte auffallende Beweglichkeit

und eine Neigung zu Verbänden besitzen. Bei der Bewegung der Stäbchen sieht man die Bacillen oder deren Fäden durch das Gesichtsfeld durchwackeln. Auf der Gelatineplatte treten kleine weisse Pünktchen auf, die bald an Ausdehnung gewinnen und die Gelatine in weiterem Umfange verflüssigen; in der Umgebung der verflüssigten Masse sieht man noch die Bacillenfäden in Form eines Strahlen-

Fig. 38. Fig. 39.




*Gelatinestichcultur des Bacillus subtilis (3. Tag).* *Gelatinestichcultur des Bacillus prodigiosus (4. Tag).*

kranzes in die Gelatine einwachsen. Die Stichcultur zeigt ebenfalls starke Verflüssigung (Fig. 38); ist die Gelatine in der Eprouvette stark verflüssigt, so bildet sich auf der Oberfläche eine Decke (Kahmhaut). Auf Agar erscheint ein ausgebreiteter Belag; auf Kartoffeln zeigt sich ein rahmähnlicher Ueberzug, der nach einigen Tagen wein-

farben wird. Blutserum oder das geronnene Eiweiss aus Kibitzeiern oder Taubeneiern wird verflüssigt; auch hier ist die Membranbildung an der Oberfläche sehr auffallend. Nach *Wyssokowitsch* wachsen die Sporen, wenn sie in die Blutbahn gebracht werden, zu Stäbchen aus und bleiben in der Leber und Milz liegen, ohne auf den Organismus einen Einfluss zu üben. Der Bacillus subtilis erzeugt nach *Vandervelde* eine energische Vergährung des Zuckers.

## Bacillus prodigiosus.

Der durch die Entwicklung der rothen Farbe besonders auffällige Bacillus prodigiosus fällt zu gewissen Zeiten aus der Luft auf stärkemehlhaltige Substanzen, gedeiht auf ihnen ziemlich rasch und gab Veranlassung zu den Sagen vom gefallenen Blutstropfen. Die Stäbchen sind sehr kurz, so dass ihr Längsdurchmesser kaum den Querdurchmesser übertrifft. Der Bacillus wurde deshalb früher zu den Mikrokokken gerechnet. Die Einzelstäbchen sind unbeweglich. Auf saurem Nährboden wachsen sie aber nach *Kübler* zu grösseren, beweglichen Bacillen aus. Sie bilden Sporen. Auf der Gelatineplatte zeigen sich schon nach 10—12 Stunden kleine, kreisrunde, körnige Colonien, die bald von der Oberfläche her verflüssigen und bei dichter Anordnung der Colonien mit einander verschmelzen; das baldige Auftreten der rothen Farbe leitet auf die Diagnose. Die Stichcultur zeigt die Verflüssigung von der Oberfläche her und bildet bald einen Verflüssigungstrichter, an dessen Oberfläche durch den Contact mit der Luft die Farbstoffbildung auftritt und sich allmälig in die Tiefe senkt (Fig. 39). In Strichculturen auf Agar tritt auf der Oberfläche eine schöne purpurrothe Farbe auf. Das schönste Wachsthum zeigt sich auf Kartoffelscheiben oder auf Oblaten, wo er auch sehr schnell bei Zimmertemperatur gedeiht, während sein Wachsthum bei höheren Wärmegraden geringer ist. Er verflüssigt Blutserum und zeigt sich auf Kibitzeiweiss bald mit schöner, rosenrother Farbe, die nur soweit reicht, als die geronnene Eiweissmasse verflüssigt ist. Der Rasen zeigt bei schwacher Vergrösserung ein punktförmiges Aussehen. Das Spectrum des Farbstoffes, der in Wasser, Alkohol und Aether leicht löslich ist, besitzt drei Absorptionsstreifen, einen in der Richtung gegen das violette Ende des Spectrums hin an *D*, einen an *E* und einen an *F*. Der rothe Farbstoff wird an der Luft unter Einwirkung von Ammoniak bräunlich, bei Zusatz von Essigsäure wieder himbeerroth.

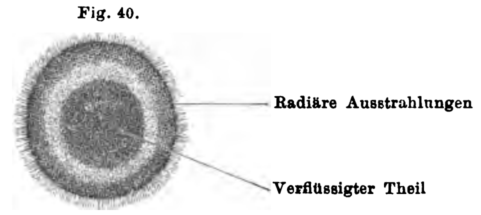
*Wyssokowitsch* und in neuester Zeit *E. Ullmann* erwiesen die Pyogenität abgetödteter Culturen des Bacillus prodigiosus. *Grawitz* und *de Bary* fanden, dass die Pathogenität an das Pigment gebunden sei.

## Kartoffelbacillus.

Man unterscheidet drei Arten von Kartoffelbacillen: Bacillus mesentericus fuscus *(Flügge)*, Bacillus mesentericus ruber *(Globig)* und Bacillus mesentericus vulgatus. Sie zeigen kurze, oft zu Ketten mit einander verbundene Fäden, die lebhaft beweglich sind; bei ihrem Wachsthum verflüssigen sie sehr bald die

Gelatine, sowohl auf der Platte, als auch in Stichculturen. Sie bilden rundliche Colonien, die bald gelblich werden und bei dem braunen Kartoffelbacillus (Bacillus mesentericus fuscus) in's Dunkelbraune übergehen; die verflüssigte bacillenreiche Gelatine ist gleichfalls dunkler (Fig. 40). Auf Kartoffelscheiben wachsen sie sehr üppig und wuchern bald von der oberen auf die untere Fläche hinüber. Bei einer höheren Temperatur (von etwa 37° C.) zeigt der Bacillus mesentericus ruber eine röthlichgelbe bis rosenrothe Farbe. Bei beiden genannten Kartoffelbacillen ist eine ausgebreitete faltige Membran von aneinander haftenden Bacillen gebildet, die man leicht von der Kartoffelscheibe abziehen kann. Der Bacillus mesentericus vulgatus hat auch die Eigenschaft, ähnlich dem Lab, das Casein der Milch zur Gerinnung zu bringen und die Milch fadig zu machen. Die fadenziehende Substanz ist wahrscheinlich metamorphosierte Cellulose. Er zeigt im Ganzen ein ähnliches Verhalten in der Gelatine und auf Agar wie die beiden anderen Kartoffelbacillen; auch haben die Culturen des Bacillus mesentericus fuscus eine gelbliche Farbe, die des Bacillus mesentericus ruber eine röthliche Farbe, während beim Bacillus

Fig. 40.




*Insel des Bacillus mesentericus vulgatus auf der Gelatineplatte.*

mesentericus vulgatus die Membran auf den Kartoffelscheiben keinen Farbstoff zeigt. Der Kartoffelbacillus entwickelt sich besonders leicht auf nicht vollständig sterilisierten Kartoffelscheiben und stört oft die Culturen anderer Mikroorganismen.

## Bacillus liodermos.

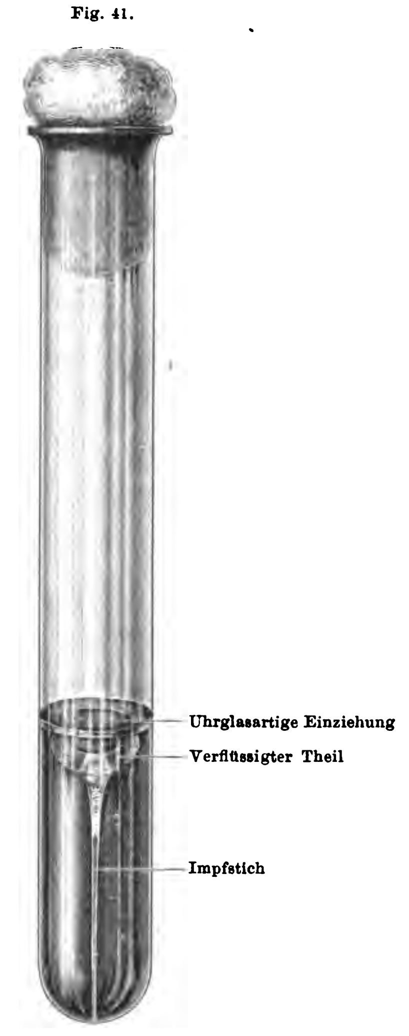
*Flügge* fand in der Luft sehr verbreitet und oft als Gast auf unseren Nährmaterialien kurze, sehr bewegliche Stäbchen, deren Wachsthum auf der Gelatine eine sehr rasche Verflüssigung derselben hervorruft. Auf der Oberfläche des verflüssigten Theiles schwimmt ein weisses Häutchen. In der Stichcultur schwimmen in der verflüssigten Masse schmutziggraue Flocken herum. Auf Kartoffeln entwickelt sich ein glatter, glänzender Ueberzug, der einer dünnen Gummilösung ähnlich ist und sich bei der Sporenbildung in eine dicke, stark gefaltete Membran verwandelt. Die gummiähnliche Masse ist in Wasser löslich. Besonders üppig wächst der Bacillus liodermos in Milch.

## Bacillus melochloros.

Der Bacillus melochloros wurde in meinem Institute von *F. Winkler* und *v. Schrötter* ursprünglich in dem Raupenkoth im

wurmigen Apfel gefunden. Er ist zeitweilig ein ständiger Bewohner der Luft meines Laboratoriums und erscheint oft als Gast auf Culturen anderer Mikroorganismen. Er dürfte auch mit dem von *Lafar* in der Butter gefundenen Bacillus butyri fluorescens identisch sein. Er besteht aus schlanken, ziemlich grossen Stäbchen mit glatt abgerundeten Ecken, die lebhaft beweglich sind. Er zeichnet sich durch sein ausserordentlich rasches Wachsthum aus, indem schon nach vier Stunden auf der Gelatineplatte grauweisse Colonien auftreten, in denen dichtere, dunklere Haufen zu sehen sind; am zweiten Tage ist die Gelatine schon verflüssigt unter Entwicklung einer grünlichgelben Farbe. In der Stichcultur zeigt sich eine uhrglasartige Einziehung schon am zweiten Tage, und in der Umgebung derselben eine sehr rasche Verflüssigung (Fig. 41). Das rasche Wachsthum und die grünlichgelbe Farbe tritt auch bei Strichculturen auf Agar ein, dessen Oberfläche sehr bald mit einem dicken, gelblichen Belag überzogen ist, während der gesammte übrige Nährboden eine grüne Färbung annimmt. Auf dem Kibitzeiweiss gedeiht er mit prachtvoll smaragdgrüner Farbe, auf Kartoffelscheiben bildet er einen röthlichgelben, schmierigen Belag. Der vom Bacillus melochloros entwickelte Farbstoff ist in Wasser sehr leicht, in Alkohol und Chloroform unlöslich; durch Säuren wird er zerstört, aber durch Alkalien wieder hergestellt. Aeltere Culturen zeigen einen äusserst unangenehmen Geruch. Kaninchen, denen Reinculturen intravenös oder intraperitoneal injiciert wurden, gingen längstens nach einer Woche zugrunde.

Fig. 41.




*Gelatinestichcultur des Bacillus melochloros (2. Tag).*

## Bacillus multipediculosus.

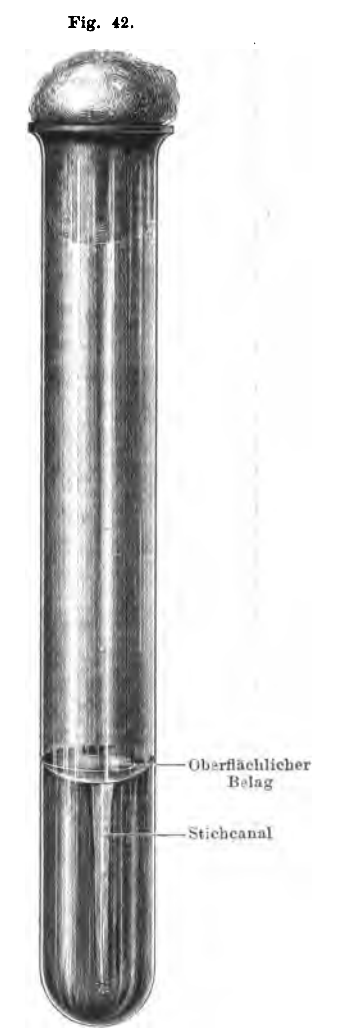
Der Bacillus multipediculosus *(Flügge)* zeigt kleine, dünne, unbewegliche Stäbchen. Die Colonien auf der Gelatine-

platte erscheinen bei schwacher Vergrösserung als rundliche, scharf begrenzte Scheiben mit radiären Ausläufern und ähneln Insecten mit zahlreichen radiär stehenden Füssen. Auch in der Stichcultur zeigen sich die Fortsätze vom Impfstiche nach den verschiedensten Richtungen; die eigenthümlichen Fortsätze haben diesem Mikroorganismus seinen Namen „multipediculosus" verschafft. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

## Bacillus neapolitanus.

Der Bacillus neapolitanus wurde von *Emmerich* zuerst im Blute und in Entleerungen von Choleraleichen in Neapel aufgefunden; später wurde sein Vorhandensein auch in den normalen Faeces constatiert. Es wurde ihm eine Pathogenität deshalb zugeschrieben, weil nach Einführung grösserer Mengen in den Körper von Meerschweinchen, Hunden, Katzen und Affen eine Erkrankung des Dünndarmes auftritt, die der menschlichen Cholera ähnlich ist; die Einführung kann sowohl subcutan, als auch in die Bauchhöhle oder in die Lungen erfolgen. Die mikroskopische Untersuchung zeigt die Bacillen in allen Organen; es sind aber von *Weiser* auch Einwände gegen die Pathogenität gemacht worden. *Weiser* hat den Bacillus neapolitanus auch in der Luft nachgewiesen. Der Bacillus stellt sich als kurzes Stäbchen dar, ohne Eigenbewegung mit abgerundeten Enden. Auf der Gelatineplatte bildet er bald höher, bald tiefer liegende, porzellanähnliche Colonien; die oberflächlichen verbreiten sich über der Gelatine zu einem Belag, die tiefen haben eine wetzsteinförmige Gestalt. Bei der Stichcultur tritt das stärkere Wachsthum auf der Oberfläche auf. Die Gelatine wird nicht verflüssigt, verliert aber ihre Alkalescenz; dadurch tritt eine Trübung der durchsichtigen Gelatine ein, womit gleichzeitig eine Ausscheidung von Salzkrystallen einhergeht. Setzt man Lakmustinctur zur Gelatine hinzu, so verschwindet die blaue Farbe und geht in eine rothe über. Auf Agar und auf Kartoffeln bildet sich eine weisse, schmierige Masse. Bei den Färbungen ist für diesen Mikroorganismus besonders charakteristisch, dass er sich bei der *Gram*'schen Methode nicht

Fig. 42.




*Gelatinestichcultur vom Bacillus Emmerich (Bac. neapolitanus).*

färbt. Seine Resistenz gegenüber äusseren Einwirkungen ist so gross, dass er nach 12tägigem Frieren und Wiederaufthauen seine Lebensfähigkeit nicht verliert (Fig. 42).

## Spirillen in der Luft.

Die in der Luft vorkommenden Spirillen sind von *Weibel* beschrieben worden und sind Erzeuger eines im Allgemeinen gelben Farbstoffes; es werden nach dem Grade der Saturation des Farbstoffes ein Vibrio aureus mit goldgelber bis orangerother Farbe, ein Vibrio flavus mit ockergelber Farbe und ein Vibrio flavescens mit gelblichgrüner Farbe unterschieden. Die Spirillen erscheinen häufig auffallend dünn, zumeist S-förmig, ohne Eigenbewegung. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich ovale oder wetzsteinförmige, zuweilen kreisrunde Inseln, die scharfrandig und granuliert sind und nach einigen Tagen Farbstoff erzeugen. Verflüssigung findet nicht statt. Stichculturen in Gelatine und Strichculturen auf Agar zeigen auch eine reiche Farbstoffentwicklung, die in den Stichculturen auf der Oberfläche auftritt; auf Kartoffelscheiben erscheint ein üppiger breiiger Belag, dessen Farbe schön ausgesprochen ist. Durch die *Gram*'sche Methode werden die Spirillen entfärbt.

# Bakteriologische Analyse des Wassers.

Das Wasser enthält sowohl in seinem flüssigen, als auch im gefrorenen Zustande fast immer Mikroorganismen, wenn auch in wechselnder Menge; nach *Frankland* werden sie Wasserbakterien genannt. Zumeist sind es Bacillen, und zwar solche, die im allgemeinen die Gelatine verflüssigen; sie gedeihen bei höheren Temperaturen nicht; einige von ihnen haben die Eigenschaft, eine ammoniakalische Gährung hervorzurufen. Es finden sich aber auch pathogene Arten, zu denen in erster Linie der von *Koch* beschriebene Cholerabacillus, der in den Trinkwässern in der Nähe von Calcutta gefunden wurde, und der Typhusbacillus gehören; daneben treten auch andere Bacillen als Verunreinigung des Wassers auf. Manche Mikroorganismen können im Wasser allein nicht gedeihen, da sie in ihm kein genügendes Material zu ihrer Fortbildung finden. Es gehen aber auch sehr viele dadurch zugrunde, dass sie von den Wasserbakterien überwuchert werden.

Sehr viele der im Wasser vorkommenden Mikroorganismen erzeugen Farbstoffe, oft so reichlich, dass grössere Wassermassen gefärbt erscheinen oder fluorescieren; einige besitzen lebhafte Phosphorescenzerscheinungen.

Durch die Filtration werden die Mikroorganismen aus dem Wasser entfernt.

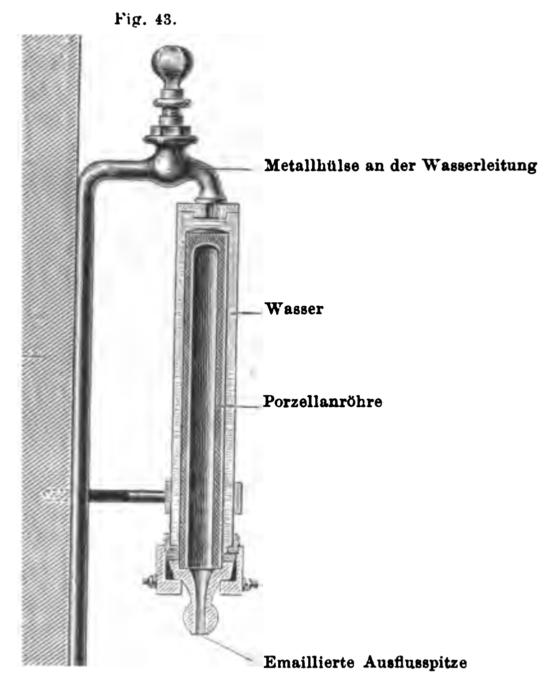
Dazu verwendet man Sandfilter, die aus Sand und Kies hergestellt werden, Kohlenfilter aus plastischer Kohle, Asbestfilter, Thonfilter aus nicht glasiertem Thon, Kieselguhrfilter aus gebrannter Diatomeenerde u. s. w. Das Filter von *Förster* lässt das Wasser durch Sandstein treten, das Filter von *David* presst es durch abwechselnde Lagen von mit gerbsaurem Eisen behandelter Wolle, Sandstein, Thierkohle und Kies durch.

Die Kaolinfilter nach dem Systeme *Chamberland-Pasteur* bestehen aus porösen, an einem Ende geschlossenen, am anderen Ende mit emaillierter Ausflussspitze versehenen Porzellanröhren, sogenannten Kerzen, von etwa 20 Cm. Länge und 25 Cm. Breite, die in das zu filtrierende Wasser gelegt oder in Metallhülsen an die Wasserleitung angeschraubt werden; es können auch mehrere zu Batterien vereinigt sein (Fig. 43).

Die Mikromembranfilter nach *Breier* bestehen aus einem mit Asbest fest belegten, feinen Metallnetze, das eine dünne Filterschichte mit äusserst feinen Poren darstellt.

Im stehenden Wasser vermehren sich nach längerer Zeit die Bakterien, die im Wasser leben, bedeutend; man hat in Ueberschwemmungsgebieten beobachtet, dass auf feuchten, abgestorbenen Pflanzentheilen Milzbrand-, Typhus- und Cholerabacillen zu wachsen vermögen. *Koch* hat im Wasser auch den Bacillus der Mäuseseptikämie gefunden. Auch dem Staphylococcus pyogenes aureus begegnet man nicht selten. Dies wird dadurch erklärt, dass das frische Wasser Kohlensäure enthält; allein auch im künstlichen, kohlensäurehaltigen Wasser (Selterswasser) finden sich oft massenhafte Keime.

Fig. 43.



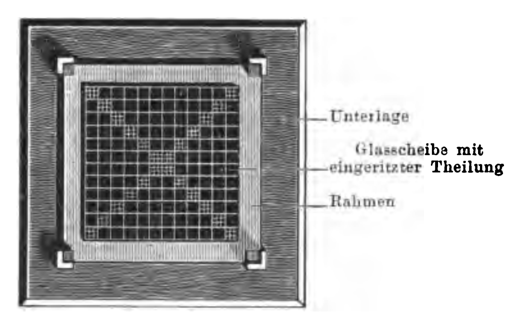

*Kaolinfilter nach dem Systeme Chamberland-Pasteur.*

Im frischen Brunnenwasser sollen sich die Keime zu Boden senken; daher ist bei manchen Brunnen, die längere Zeit nicht gebraucht wurden, nach dem ersten Pumpen ein grösserer Keimgehalt nachweisbar als später. Die Mikroorganismen werden den Brunnen gewöhnlich nicht durch das Grundwasser, sondern von der Oberfläche und den oberflächlichen Bodenschichten zugeführt; je mehr Grundwasser durch anhaltendes Pumpen zuströmt, desto mehr verringert sich der Bakteriengehalt des Brunnenwassers. Wenn der Abstand des Brunnens von der Oberfläche gering oder künstlich durch Aufschüttung des Bodens hergestellt ist, oder wenn Jauchegruben in's Grundwasser hinabreichen, so wird das Grundwasser, in dem der Brunnen steht, sehr bakterienreich sein *(Arnold)*.

Ein Trinkwasser, das vom bakteriologischen Gesichtspunkte als gut bezeichnet werden kann, muss arm an Spaltpilzen sein, darf in den Leitungen nicht stagniert haben und muss die Gewähr bieten, dass nicht durch Ritzen und Spalten des Reservoirs oder der Leitung eine Communication mit Canälen und Senkgruben möglich ist. Nach *Rubner* wirkt die natürliche Filtration durch den Boden, der das Quellwasser unterliegt, so reinigend auf die Gewässer, dass sie fast bakterienfrei zu Tage treten und im Cubikcentimeter etwa nur zwei bis drei Keime enthalten.

Zur Untersuchung des Wassers entnimmt man $^1/_2$—1 Ccm. mit einer sterilisierten Pipette und bringt sie in eine keimfreie, flüssige Gelatine, giesst diese auf eine Platte und verfolgt zunächst bei Zimmertemperatur die Entwicklung der Colonien. Hierauf wird mit Hilfe eines Zählapparates die Anzahl der entstandenen Inseln bestimmt und auf diese Weise der relative Gehalt an Mikroorganismen von den verschiedenen Wasserarten angegeben.

Fig. 44.




*Wolffhügel'sche Zählplatte.*

Der hierzu benützte Zählapparat (*Wolffhügel*'sche Zählplatte, Fig. 44) besteht aus einer schwarzen Tafel, auf der die Platte mit der Gelatinecultur aufgelegt wird. Ueber dieser Platte befindet sich eine Glasscheibe, in der gleich grosse Quadrate eingeritzt sind; nun werden mit Hilfe einer Lupe die Inseln in den einzelnen Quadraten gezählt und daraus das Mittel gezogen. Die gewonnene Zahl mit der Gesammtzahl der Quadrate auf der Platte multipliciert, gibt annähernd die Summe der Colonien für ein gewisses Areal; bei den verschiedenen Wassersorten ist diese Anzahl verschieden. Es darf das Wasser zu diesem Versuche nicht aufbewahrt, sondern soll sofort nach der Entnahme untersucht werden. Bei der Untersuchung von Wasser, welches voraussichtlich reich an Keimen ist, z. B. bei der Untersuchung von Wasser aus Flüssen oder Teichen, muss die zur Untersuchung verwendete Wassermenge mit sterilisiertem destillierten Wasser verdünnt werden (gewöhnlich im Verhältnis 1:1 oder 1:9), da sonst die Colonien so dicht an einander liegen, dass sie nicht gezählt werden können, oder die Gelatine zu rasch verflüssigen.

Der Zählapparat kann dadurch vervollständigt werden, dass man an einer viereckigen Schachtel nach oben einen grösseren Ein-

schnitt macht und innerhalb der Schachtel einen Planspiegel schief stellt. Wenn man die Gelatineplatte auf die Schachtel legt, so kann man im durchfallenden Lichte die Anzahl der Inseln in den einzelnen Quadraten leicht bestimmen.

## Verfahren nach Pfuhl.

Kann die Untersuchung unmittelbar an der Quelle vorgenommen werden, so füllt man das zu untersuchende Wasser in sterilisierte Gefässe, die sofort mit einem sterilisierten Wattepfropf verschlossen werden. Zur keimfreien Entnahme des Wassers verwendet *Pfuhl* Glasröhren mit flachem Boden, die theilweise luftleer gemacht sind und an ihrem zur Capillare ausgezogenen und rechtwinkelig gebogenen Ende zugeschmolzen werden. Die Spitze wird unmittelbar an der Quelle abgebrochen, die Röhre mit Wasser gefüllt und darauf wieder zugeschmolzen. — Zum Behufe des Transportes benützt man kleine, cylindrische, mit eingeschliffenem Glasstöpsel versehene Flaschen, die man sterilisiert und mit einer Gummikappe überzogen hat. Zur Entnahme von Wasser aus einer Röhrenleitung hebt man Gummikappe und Glasstöpsel ab, füllt die Flasche voll und verschliesst wieder sorgfältig. Es darf aber nicht das zuerst abfliessende Wasser zur Untersuchung verwendet werden. Um das Wasser aus einer Quelle zu erhalten, nimmt man die Gummikappe ab, öffnet den Glasstöpsel erst unter Wasser, lässt durch etwa eine Minute Wasser in die Flasche laufen, verschliesst sie mit dem Glasstöpsel, hebt sie aus dem Wasser heraus und zieht die Gummikappe über den Glasstöpsel.

## Verfahren nach Kirchner.

Man gibt einem etwa 36 Cm. langen Glasrohre von der Weite, wie sie zum Verbinden von Apparaten üblich ist, in der Flamme eine U-förmige Biegung, zieht beide Enden zu Spitzen aus, sterilisiert das Röhrchen und schmilzt es noch glühend an beiden Enden zu. Am Orte der Wasserentnahme bricht man beide Spitzen ab, saugt an der einen, während man die andere im Wasser hält, das Röhrchen mit Wasser voll und schmilzt beide Spitzen an Ort und Stelle zu. Die Röhrchen werden in Eis gepackt und so versendet.

Zur vorläufigen Orientierung über die vorhandenen Mikroorganismen verdampft man einige Tropfen des zu untersuchenden Wassers auf dem Deckglase, zieht es zur Fixierung des Trockenrückstandes mehrmals durch die Gasflamme und träufelt einige Tropfen einer Farbstofflösung auf. Bei dem Abspülen der Farbe darf der Strahl der Spritzflasche nicht auf den Trockenrückstand des Wassers selbst gerichtet sein.

Es ist zweckmässig, dass jeder Untersuchung durch die Züchtung eine Sedimentierung vorausgehe. *Finkelnburg* hat dazu einen Apparat angegeben, der aus einem cylindrischen Gefässe mit heraushebbarem Boden besteht; man lässt durch eine mittelst eines Glashahnes verschliessbare Oeffnung des Bodens das Wasser hineintropfen, während sich die schwimmenden Theilchen auf dem heraushebbaren

Glasboden ansammeln; auf diese Weise lässt sich rasch eine Ablagerung der organisierten Beimengungen erzielen. Noch besser dient diesem Zwecke die *Csokor*'sche oder die *Gärtner*'sche Centrifuge.

Zur leichteren Isolierung von Cholera- und Typhusbacillen, sowie anderer mit Eigenbewegung begabter Bacterien hat *Ali Cohen* ein eigenthümliches Verfahren vorgeschlagen, das auf der chemotaktischen Wirkung gewisser Reizmittel, besonders des Saftes roher Kartoffeln beruht. Man füllt eine kleine Glascapillare mit der auf der Schnittfläche des rohen Kartoffels befindlichen Flüssigkeit und schmilzt sie an dem einen Ende zu; auf dem Objectträger wird nun ein Paraffinrahmen hergestellt, in dessen Raum die zu untersuchende Flüssigkeit gebracht wird; das zugeschmolzene Ende der Glascapillare wird in dem Paraffinrahmen befestigt und das offene Ende reicht in die Flüssigkeit hinein und wird mit einem Deckglase bedeckt. Man kann nun unter dem Mikroskope betrachten, wie nur die mit Eigenbewegung begabten Mikroorganismen in die Capillare hineinwandern; durch das Plattenverfahren lassen sie sich dann leicht isolieren.

## Micrococcus aquatilis.

Nach *Bolton* ist der Micrococcus aquatilis einer der gewöhnlichsten Wasserbewohner. Es sind sehr kleine, sich meist zu unregelmässigen Haufen ordnende Kokken, deren Wachsthum die Gelatine nicht verflüssigt. Auf der Oberfläche der Gelatine entwickeln sich runde, porzellanartig glänzende Auflagerungen, von deren Centrum Furchen ausstrahlen und der Colonie die Zeichnung eines Leberacinus geben. In der Stichcultur erfolgt das Wachsthum sowohl an der Oberfläche, als längs des Stiches. Auf Agar entwickelt sich ein weisser Belag.

## Micrococcus agilis.

Der von *Ali Cohen* im Trinkwasser gefundene Micrococcus agilis tritt in Diplokokken- oder Streptokokkenform auf und besitzt eine lebhafte spontane Eigenbewegung. Er verflüssigt die Gelatine sehr langsam, so dass im Stichcanal häufig eine Verdunstung der Flüssigkeit innerhalb dreier Wochen längs des Stiches stattfindet, wodurch ein trockener, hohler Trichter entsteht. Er bildet einen rosenrothen Belag, sowohl auf Agar als auf Kartoffeln.

## Micrococcus fuscus.

Der von *Maschek* beschriebene Micrococcus fuscus besteht aus unbeweglichen Kokken, die öfter eine elliptische Form besitzen; auf der Gelatineplatte erscheinen runde, hellbraune oder dunkelbraune Colonien, die bald verflüssigen; im Stichcanale geht die Verflüssigung ziemlich rasch vor sich; auf der Oberfläche des Verflüssigungstrichters tritt ein sepiabraunes Häutchen auf. Die braune Farbe zeichnet auch den schleimigen Belag auf Kartoffeln aus.

## Micrococcus luteus.

Der von *Cohn* beschriebene Micrococcus luteus besteht aus kleinen, unbeweglichen Elementen, die eine ziemlich lockere Zoogloea bilden. Auf der Gelatineplatte erscheinen unregelmässige Colonien; in der Stichcultur treten auf der Oberfläche ein gelber Belag und längs des Stiches Körner auf. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Kartoffeln und auf Agar entwickelt sich ein schleimiger Belag. Auf alten Culturen erscheinen Erhebungen und Vertiefungen. Die gelbe Farbe erweist sich sowohl gegen Säuren als Alkalien widerstandsfähig.

## Micrococcus aurantiacus.

Der gleichfalls von *Cohn* gefundene Micrococcus aurantiacus besteht auch aus kleinen unbeweglichen Elementen, die zuweilen in Diplokokkenform auftreten. Die Colonien und die Stichculturen in Gelatine zeigen eine schön orangegelbe Farbe; auch auf Agar und Kartoffeln ist der Belag schön gefärbt. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

## Micrococcus fervidosus.

Von *Adametz* wurde der Micrococcus fervidosus beschrieben, aus kleinen Elementen bestehend, dessen Colonien auf der Gelatineplatte als schwach gelblich gefärbte, später braune Pünktchen auftreten. Längs des Stichcanales in Gelatine erscheint ein körniges Wachsthum und an der Oberfläche ein dünner Belag. Die Agaroberfläche zeigt einen perlmutterähnlichen Glanz. Auf Kartoffeln tritt ein weisser schmutziger Belag auf. Auf Glyceringelatine entwickeln sich reichliche Gasblasen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

## Micrococcus carneus.

Der von *Zimmermann* beschriebene Micrococcus carneus zeichnet sich durch die traubenförmige Anordnung der unbeweglichen Elemente aus. Auf der Gelatineplatte treten rundliche, röthlich gefärbte Colonien auf; in älteren Culturen verblasst der röthliche Farbenton gegen die Peripherie hin. In Stichculturen zeigt sich die Farbe nur an der Oberfläche. Auf Agar und auf Kartoffeln entwickelt sich ein fleischrother, bisweilen violetter Belag.

## Micrococcus concentricus.

Der Micrococcus concentricus wurde ebenso wie der vorige von *Zimmermann* in der Chemnitzer Wasserleitung gefunden; seine Kokken sind in Haufen geordnet. Auf der Gelatineplatte wächst er in Form blaugrauer Pünktchen; die Stichcultur in Gelatine zeigt auf der Oberfläche eine graubraune, am Rande radiär gekerbte Scheibe, um welche herum ein hellbräunlicher Ring zieht, der wieder von einem hellglänzenden Ringe umfasst ist, so dass

die Oberfläche der Gelatine concentrisch geringelt erscheint. Auf Kartoffeln bildet sich ein schmieriger grauer Belag.

### Diplococcus luteus.

Der von *Adametz* aufgefundene Diplococcus luteus bildet längere Ketten, von denen sich ganze Stücke lebhaft im hängenden Tropfen fortbewegen. Die Gelatine wird von ihm langsam verflüssigt; die Colonien sind rundlich, braungelb und breiten sich ziemlich rasch aus. Bei den Stichculturen ist das Wachsthum auf der Oberfläche lebhafter und zeigt citronengelbe, concentrisch geschichtete Auflagerungen. Auf Agar erscheint er als ein gelber oder braunrother Belag; auf Kartoffeln ist der Belag schmutziggelb und verbreitet einen Schimmelgeruch. Das Casein der Milch wird durch seine Culturen gefällt.

### Bacillus fluorescens liquefaciens und Bacillus nivalis (Gletscherbacillus).

Beide zeigen leicht bewegliche, kurze, dicke Stäbchen. *Fick* fand den Bacillus fluorescens liquefaciens auch im Conjunctivalsecret, *Schmolk* den Bacillus nivalis im Gletschereis. Beide bilden auf der Gelatineplatte Colonien, die in der Mitte trichterförmig eingezogen sind und eine grünlichgelbe Fluorescenz zeigen. Die Stichcultur wächst in der Tiefe langsam, beim Bacillus fluorescens aber etwas rascher als beim Bacillus nivalis. Durch die Verdunstung erscheint an der Oberfläche bei dem ersteren eine luftblasenähnliche Vertiefung, bei dem letzteren breitet sich die Verflüssigung über die Gelatine aus; der nicht verflüssigte Theil des Nährbodens zeigt eine grünlichgelbe Fluorescenz. Auf Agar erscheint längs des Impfstriches ein weisslicher Belag und die Agarmasse fluoresciert. Auf Kartoffeln ist der Belag gelbbräunlich.

### Bacillus fluorescens non liquefaciens.

Nebst den vorbeschriebenen, fluorescierenden, aber die Gelatine verflüssigenden Bacillen ist im Wasser auch ein Bacillus fluorescens non liquefaciens gefunden worden, kleine Stäbchen ohne Eigenbewegung. Die Colonien auf der Gelatineplatte sind schillernd, mit zackigen Rändern. In der Mitte der Colonie befindet sich ein dunkler Fleck und ringsherum eine hellere, blattartige Zeichnung. Bei der Stichcultur zeigt sich an der Oberfläche ein stärkeres Wachsthum; längs des Impfstiches ist kein Wachsthum zu beobachten. Der Schiller findet sich aber in der ganzen Gelatine. Er unterscheidet sich von dem Bacillus erythrosporus dadurch, dass letzterer röthlich gefärbte Sporen zeigt.

### Bacillus erythrosporus.

Der Bacillus erythrosporus wurde von *Eidam* im Trinkwasser und in verschiedenen faulenden Eiweissflüssigkeiten gefunden. Die Stäbchen sind schlank, mit abgerundeten Ecken und lebhafter

Eigenbewegung. Seine Culturen charakterisieren sich durch die Entwicklung eines dichromatischen Farbstoffes; sie erscheinen im auffallenden Lichte orangegelb, im durchfallenden Lichte grün. Die Colonien auf der Gelatineplatte sind rundlich; in der Mitte zeigen sie eine dunklere Stelle, um die herum sich eine breitere helle Zone ausbreitet. Um jede Colonie entsteht die Fluorescenz, die sich bald auf die Gelatine derart verbreitet, dass die ganze Gelatineplatte die Fluorescenz zeigt. Die Stichcultur zeigt auf der Oberfläche einen Belag, von dem aus die Fluorescenzerscheinung tiefer greift und sich längs des ganzen Impfstiches ausbreitet. Auf Kartoffeln entsteht eine röthliche, später nussbraune Farbe. Die Sporen zeichnen sich durch einen rothen Schimmer aus, der den Schein erweckt, als ob die Sporen mit Fuchsin gefärbt wären.

## Bacillus arborescens.

Der Bacillus arborescens wurde von *Frankland* sehr häufig in der Londoner Wasserleitung gefunden. Die Stäbchen sind schlank und beweglich. Auf der Gelatineplatte erscheinen irisierende Colonien, die einem Stamme mit seinen Ausläufern ähnlich sind; die Ausläufer sind garbenähnlich angeordnet. In der Stichcultur zeigt sich gleichfalls ein oberflächliches Irisieren und bald eine langsame Verflüssigung. Auf Agar und auf Kartoffeln entwickelt sich ein gelber oder orangefarbener Belag, dessen Rand irisiert.

## Bacillus violaceus.

In violett gefärbten Wässern, im Fluss- und Leitungswasser, so in der Themse und in der Spree, finden sich bewegliche Stäbchen mit abgerundeten Ecken. Die Colonien auf der Gelatineplatte sind anfangs kleinen, in der Gelatine eingeschlossenen Luftbläschen ähnlich; später verflüssigen sie die Gelatine und bilden körnige, bläulichviolett gefärbte Inseln, die schon am vierten bis fünften Tage deutlich hervortreten. In der Stichcultur bildet sich durch die Verflüssigung ein Trichter, in welchem sich die blaugefärbten Bacillenmassen zu Boden senken. Auf Agar entwickelt sich ein dunkelblauer Ueberzug; auf Kartoffeln gedeiht er recht gut und wächst von der Impfstelle aus in radiärer Richtung, bis die Kartoffelscheibe nahezu bedeckt ist. Das Blutserum und das Kibitzeiweiss werden unter Bildung eines violetten Farbstoffes verflüssigt.

## Bacillus gasoformans.

Der gasbildende Bacillus besteht aus kleinen, sehr beweglichen Stäbchen und bildet auf der Gelatineplatte anfangs kleine Inseln, welche die Gelatine schnell verflüssigen und sich sowohl in die Fläche, als in die Tiefe ausbreiten. Es tritt dadurch eine Schalenform auf, in der Gasblasen sichtbar sind. Besonders charakteristisch ist die Bildung von Gasblasen in der klaren Gelatine längs des Impfstiches; die Gelatine wird rasch verflüssigt. Das Wachsthum erfolgt nur bei Zimmertemperatur.

## Bacillus phosphorescens.

Im leuchtenden Wasser des Kieler Hafens wurde von *Fischer* der Bacillus phosphorescens indigenus (einheimischer Leuchtbacillus) gefunden, dessen Stäbchen kurz, an den Enden abgerundet und lebhaft beweglich sind. Er wächst auf Blutserum und auf Kartoffeln nicht. Auf der Gelatineplatte treten kleine, rundliche Colonien auf, die rasch verflüssigen und nach etwa acht Tagen das Aussehen einer mit einem Locheisen ausgeschlagenen Oeffnung in der Gelatine bieten. Dieses Loch erscheint mit Luft ausgefüllt. Die jungen Colonien sind meergrün, die älteren sind schmutzig graugelb und bilden verschieden geformte Schollen. Die Stichcultur ist schwach konisch oder sanduhrförmig, mit einem dünnen Belage am Rande der Gelatine. In alten Culturen häufen sich die Colonien am Boden an ohne Flüssigkeit. Das Leuchten erfolgt mit einer bläulichweissen Farbe. Wenn Spuren der Cultur dem Seewasser zugesetzt werden, so bekommt dieses die Fähigkeit des Meerleuchtens.

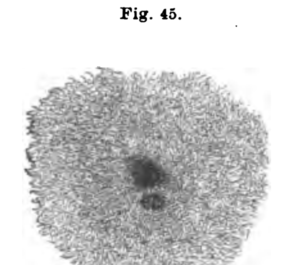
Ihm nahe steht der Bacillus phosphorescens indicus (indischer Leuchtbacillus), der auch von *Fischer* im Seewasser gefunden wurde und kleine, dicke, lebhaft bewegliche Stäbchen bildet. Ungefähr am dritten Tage treten auf der Gelatineplatte runde, scharfgerandete Colonien auf, auch von meergrüner, rosig schimmernder Farbe; später werden sie schmutziggelb. Die Stichcultur zeigt am vierten Tage eine Vertiefung an der Einstichstelle, die mit Luft ausgefüllt ist. Später nimmt der Substanzverlust zu; die verflüssigte Gelatine zeigt ein schmutziggelbes Häutchen. Auf Kartoffeln entwickelt sich ein weisser Belag. Gekochte Fische und Fleisch bieten für das Gedeihen einen guten Boden. Bei Temperaturen unter 10° ist das Wachsthum behindert. Durch das Wachsthum auf Kartoffeln unterscheidet er sich vom einheimischen Leuchtbacillus. Unter Zutritt von Luft und Feuchtigkeit, am besten bei einer Temperatur von 25—30°, zeigt sich ein Leuchten im Dunkeln. Beide Leuchtbacillen lassen sich bei ihrem eigenen Lichte photographieren. Sie wachsen am besten auf Häringsgelatine, welche der gewöhnlichen Gelatine entsprechend bereitet wird.

## Bacillus ramosus.

Der Bacillus ramosus (Wurzelbacillus) zeigt kurze, an den Enden abgerundete Stäbchen, denen eine geringe Beweglichkeit eigen ist. Er findet sich sowohl im Brunnenwasser, als auch im Flusswasser und an der Oberfläche der Erde. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich kleine Colonien mit undeutlichem Rande, die später pilzfädenartige Ausläufer aussenden. Wenn bei längerem Wachsthume die Fäden in einander greifen, so bilden sie ein verflochtenes, wurzelähnliches Netz (Fig. 45). Die Wurzelform tritt noch charakteristischer in der Stichcultur hervor; vom Stiche aus ziehen in radiärer Richtung Ausläufer, die, den Wurzelfäden ähnlich, an dem Hauptstamme, dem Stiche, hängen; es wurde das Aussehen der Cultur sehr treffend mit einem umgekehrten Tannenbaume verglichen

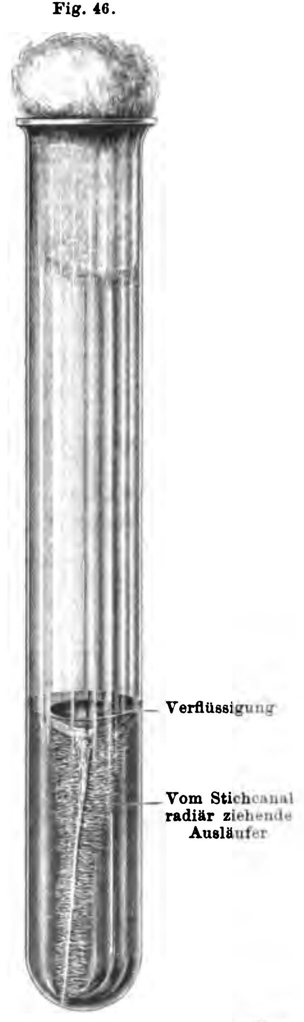
(Fig. 46). Aeltere Culturen sind total verflüssigt und tragen an der Oberfläche ein Häutchen. Auf A g a r sind die Verästelungen gleichfalls deutlich. Auf K a r t o f f e l n kommt es auch zur Sporenbildung. Auf K i b i t z e i w e i s s treten bald weisslichgraue, wurzelförmig wachsende

Fig. 45.



*In Verflüssigung begriffene Insel des Bacillus ramosus auf der Gelatineplatte.*

Fig. 46.




*Gelatinestichcultur des Bacillus ramosus (3. Tag).*

Colonien auf, die sich immer mehr verflechten und verwirren; die Verflüssigung des Kibitzeiweisses ist stark verzögert.

## Bacillus aurantiacus.

Der von *Frankland* in Tiefbrunnen gefundene B a c i l l u s a u r a n t i a c u s zeigt nur schwache Eigenbewegung. Die Stäbchen

sind oft paarig gelagert und wachsen zu Fäden aus. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte treten kleine erhabene Colonien auf, die anfangs dunkel gefärbt und später hellorangegelb sind. Auch auf der Oberfläche der Strichcultur ist die Orangefarbe sehr deutlich; der Impfstrich zeigt kein Wachsthum. Auf Agar ist der Belag auch orangefarben; auf Kartoffeln ist das Wachsthum auf die Impfstelle beschränkt.

### Bacillus aureus.

*Adametz* fand den Bacillus aureus im Wasser und *Unna* auf der Haut des Menschen bei Eczema seborrhoicum. Die Stäbchen sind schlank, mit geringer Beweglichkeit. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Colonien auf der Gelatineplatte sind unregelmässig, verschmelzen mit einander und erzeugen einen goldgelben Farbstoff. Der Farbstoff tritt auch in Form von Halbkugeln auf der Oberfläche der Strichcultur hervor; auf Kartoffeln geht die goldgelbe Farbe bald in eine braunrothe über.

### Bacillus bruneus.

Der von *Adametz* und *Wichmann* beschriebene braune Bacillus zeigt kleine, unregelmässige Stäbchen; die Colonien, welche die Gelatine beim Wachsthum nicht verflüssigen, sind rundlich, anfangs weisslich, später braun. Die braune Farbe tritt auch längs des ganzen Stichcanales in der Gelatine auf.

### Bacillus aquatilis.

Der von *Frankland* beschriebene Bacillus aquatilis zeigt kurze, schwach bewegliche Stäbchen. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich die Colonien in der Tiefe und greifen auf die Oberfläche über; die Gelatine wird verflüssigt; von der Oberfläche erstrecken sich Bündel von Fäden an die Peripherie. Bei der Stichcultur tritt anfangs eine schwach gelbliche Färbung auf der Oberfläche auf; die Verflüssigung erfolgt verhältnismässig spät. Auf Agar beschränkt sich das Wachsthum nur auf den Impfstrich. Auf Kartoffeln ist die Entwicklung der Colonien ebenfalls spärlich. Er wurde im Wasser von Tiefbrunnen gefunden, die im Kreideboden angelegt sind.

### Bacillus aquatilis sulcatus.

*Weichselbaum* hat im Wasser der Wiener Hochquellenleitung zur Zeit der Einleitung von Schwarzawasser vier Mikroorganismen gefunden, die er als Bacillus aquatilis sulcatus 1—4 bezeichnet. Die drei ersten Formen haben bewegliche Elemente; die Elemente der vierten Art sind kürzer und unbeweglich. Auf der Gelatineplatte zeigen sich Colonien, die im Centrum dicker als in der Peripherie sind und einen deutlich gefärbten Rand besitzen. Auf der Oberfläche der Colonien sind bei schwacher Vergrösserung

Furchen sichtbar, die sich unter den verschiedensten Winkeln kreuzen. Im Centrum ist das Netzwerk der Furchen dichter als in der Peripherie. Die Verschiedenheiten beschränken sich auf Temperaturunterschiede und auf die Verschiedenheit des Geruches, der bei der ersten Form molkenartig, bei der zweiten urinös und bei der dritten stark unangenehm ist; die Culturen der vierten Form verbreiten keinen Geruch. In Stichculturen zeigt sich ein oberflächliches Wachsthum. Die vierte Form wächst auf Kartoffeln nicht.

## Bacillus aquatilis radiatus.

Im Wasser der Chemnitzer Wasserleitung fand *Zimmermann* den Bacillus aquatilis radiatus, dessen Stäbchen beweglich sind. Auf der Gelatineplatte bilden sich unregelmässige Colonien mit wurzelförmigen, radiär geordneten Ausläufern; die Gelatine wird ziemlich rasch verflüssigt; in der Mitte der verflüssigten Colonie ist die Bakterienmasse angesammelt, um sie herum zieht ein gelblich gefärbter Ring, der von einer trüben, gelblichen Masse umgeben wird. Die Stichculturen zeigen nach der Verflüssigung an der Oberfläche ein kreisrundes Häutchen. Auf Agar bildet sich ein Belag, der im auffallenden Lichte bläulich und im durchfallenden Lichte gelblich erscheint.

## Bacterium Zürnianum.

Das von *Adametz* beschriebene Bacterium Zürnianum zeigt kurze, unbewegliche Stäbchen. Die Colonien, welche die Gelatine nicht verflüssigen, bilden traubenförmige Haufen. Die Oberfläche der Stichcultur ist gleichfalls traubenförmig; auf Kartoffeln gedeiht er bei 25—30° C.

## Bacillus membranaceus amethystinus.

*Eisenberg* und *Jolles* haben im Brunnenwasser von Spalato den Bacillus membranaceus amethystinus gefunden, der die Gelatine unter Entwicklung eines dunkelvioletten Farbstoffes zu verflüssigen vermag. Die Stäbchen sind kurz und unbeweglich. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich kleine, dunkelviolette Colonien, welche langsam verflüssigen; auf der Oberfläche der verflüssigten Masse erscheint ein violettes Häutchen, das einer mit Gentianaviolett gefärbten Membran ähnlich sieht. In der Stichcultur tritt eine Auflagerung mit zackigen Rändern auf, die sich nach etwa zwei Wochen violett färbt und die Gelatine langsam verflüssigt; auf der verflüssigten Masse tritt auch hier ein violettes Häutchen auf. Auf Agar bildet sich ein anfangs weisslicher, später violetter Belag. Auf Kartoffeln entsteht ein schmutzig olivengrüner Belag. In Bouillon entwickelt sich ein violetter Bodensatz und ein violettes Häutchen.

## Bacillus indigoferus.

*Claessen* fand im Spreewasser einen Bacillus indigoferus, dessen Stäbchen schlank sind, abgerundete Ecken besitzen, sich leb-

haft bewegen, oft aber in ganzen Haufen an einander haften und eine Gallerthülle zu besitzen scheinen. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich erst am dritten Tage die Colonien, die bereits am nächstfolgenden Tage einen indigoblauen Farbstoff enthalten. In der Stichcultur zeigt sich schon nach 24 Stunden um die Einstichstelle eine punktförmige, tief indigoblaue Masse. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Agar kommt es schon nach 24 Stunden im Bereiche des Impfstriches zur Entwicklung einer indigoblauen Auflagerung, deren Oberfläche von einem schillernden Häutchen überzogen ist. Auf Kartoffeln entwickelt sich nach 3—4 Tagen ein mächtiger, tief indigoblauer Farbstoff, aber nur bei saurer Reaction. Die Bildung des Farbstoffes scheint vom Lichte unabhängig zu sein.

### Bacillus janthinus.

In der Chemnitzer Wasserleitung wurde von *Zopf* der Bacillus janthinus gefunden, der kurze Stäbchen mit lebhafter Eigenbewegung zeigt. Die Gelatine wird verflüssigt unter Bildung eines blauvioletten Farbstoffes.

### Bacillus ochraceus.

In der Chemnitzer Wasserleitung fand *Zimmermann* auch einen Bacillus mit ockergelbem Farbstoffe, der als Bacillus ochraceus bezeichnet wurde; die Gelatine wird langsam verflüssigt; die Stäbchen sind wenig beweglich.

### Bacillus gracilis.

*Zimmermann* beschrieb einen Mikroorganismus, den er wegen der Form der Stäbchen Bacillus gracilis nannte. Seine Stäbchen sind schlank und zierlich und besitzen eine oscillierende Rotation. Die Gelatine wird verflüssigt. Auf Agar tritt eine bläulichweisse Färbung auf, auf Kartoffeln ist das Wachsthum gering. Er besitzt die Eigenschaft, innerhalb der festen Nährböden besser zu gedeihen als an deren Oberfläche; daher kommt er auch unter der Glimmerplatte fort.

### Bacillus sulfhydrogenus.

*Miquel* fand im Wasser, sowohl im Trinkwasser als auch im Regenwasser und Canalwasser einen anaërob lebenden Bacillus, dem die Eigenschaft zukommt, Eiweiss zu zersetzen und Schwefelwasserstoff zu bilden. Seine Zellen sind sehr kurze, bewegliche Stäbchen, deren Länge bei der künstlichen Züchtung zunimmt. Aus einem schwefelfreien Nährboden spalten sie Kohlensäure und Wasserstoff ab; in einer mit weinsaurem Ammoniak und mit Schwefel im Ueberschuss versetzten Bouillon wird in 48 Stunden 1 Grm. Schwefel zerlegt.

Doch entwickeln auch andere Bakterien Schwefelwasserstoff. Um sich davon zu überzeugen, genügt es, in die Reagensculturen Papier-

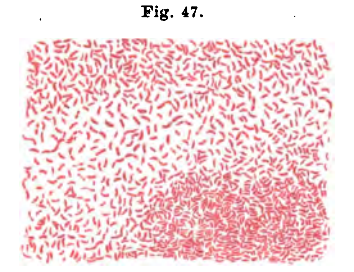
streifen zu hängen, die mit essigsaurem Blei getränkt sind; bei der grössten Zahl der Wasser- und Luftbacillen findet man eine Schwärzung des Papieres. Nach *Macé* wird diese Reaction deutlicher, wenn man dem Nährboden etwas Schwefelblumen zufügt.

## Cholerabacillus.

*Koch* fand in den Entleerungen und im Darme von Cholerakranken einen Kommabacillus und lieferte den Beweis, dass dieser Mikroorganismus die Ursache der Choleraerkrankung sei. Er fand ihn auch in dem Wasser eines Tanks in der Nähe von Calcutta. Versuche zeigten, dass sich die Kommabacillen im sterilisierten Wasser sehr gut vermehren können, während sie im gewöhnlichen Wasser von den Wasserbakterien bald überwuchert werden. Ebenso wenig vertragen sie die Concurrenz anderer Bakterien. Sie gehen in faulenden Flüssigkeiten zu Grunde. *Gruber* erhielt aber noch aus wochenlang faulenden Darmentleerungen Reinculturen.

Die Cholerabacillen stellen plumpe, in der Längsachse gekrümmte Bacillen dar, deren Gestalt einem Beistrich ähnelt (daher der Name

Fig. 47.



*Cholerabacillen aus einer Reincultur (nach Jaksch).*

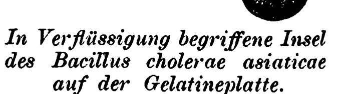
„Kommabacillus", Fig. 47). Neben dieser Krümmung besitzen sie noch eine Torsion, so dass sie eine Art der Schraubenbakterien vorstellen; sie werden deshalb auch als Vibrio cholerae oder als Spirillum cholerae bezeichnet. Die Bakterien liegen in Ketten mit mässig steiler Windung zusammen. Im hängenden Tropfen untersucht, zeigen sie eine äusserst lebhafte Bewegung, so dass sie nicht unrichtig mit einem Mückenschwarm verglichen werden können, der das ganze Gesichtsfeld durchtanzt. *Löffler* fand an dem einen Ende der Zelle einen Geisselfaden. *Koch* fand an ihnen keine Sporen, dagegen ist *Hüppe* der Nachweis einer Arthrosporenbildung gelungen. Sie vertragen schlecht chemische Eingriffe und gehen durch die Säure des Magensaftes zugrunde; sie gedeihen auch nicht auf einer schwach sauren Gelatine. Bei Temperaturen über 50° gehen sie zugrunde, gedeihen aber sowohl bei Zimmertemperatur, als auch im Wärmekasten. Durch Austrocknung verlieren sie bald ihre Entwicklungsfähigkeit. Durch Anilinfarbstoffe in verdünnter alkoholischer Lösung werden sie nach ungefähr 10 Minuten gefärbt. Das Erwärmen im gelösten Farbstoffe beschleunigt die Färbung und erhöht deren Intensität. Besonders ist hervorzuheben, dass sie bei der Anwendung

der *Gram*'schen Methode entfärbt werden. Die Färbung wird folgendermassen durchgeführt: Eine alkoholische Fuchsin- oder Gentianaviolettlösung wird mit Wasser soweit verdünnt, dass eine ziemlich starke wässerige Farbstofflösung entsteht, die in ein Uhrschälchen gebracht wird. Hierauf wird eine Spur der Reincultur oder ein Flöckchen des Darminhaltes auf ein Deckgläschen gebracht und mittelst eines darüber gelegten Deckgläschens schwach verrieben. Die beiden Deckgläschen werden aus einander gezogen, an der Luft getrocknet, mit einer Pincette gefasst und zur Fixierung der Mikroorganismen mehrmals durch die Flamme gezogen; mit der inficierten Fläche nach unten wird das Gläschen auf die Farblösung gelegt; unter schwachem Erwärmen, aber auch ohne Erwärmen, wirkt die Farbe durch 10 Minuten auf das Präparat ein. Selbstverständlich muss für Fernhaltung aller auf die Farbe zersetzend einwirkenden Stoffe gesorgt werden. Mit einer Pincette wird das Gläschen aus der Farbe gehoben, in Wasser gewaschen und mit der inficierten Fläche nach oben getrocknet.

Hierauf wird ein Tropfen Canadabalsam über die bacillentragende Fläche gebracht und so das Deckgläschen auf einem Objectträger befestigt. Die mikroskopische Untersuchung erfolgt mit Hilfe der Oelimmersion und des *Abbé*'schen Beleuchtungsapparates.

Eine Probe von dem auf Cholerabacillen zu untersuchenden Materiale wird in Gelatine vertheilt und auf eine Gelatineplatte gegossen. Man erhält bald Colonien, die zackige, gebuchtete Ränder besitzen und bei hundertfacher Vergrösserung ein Aussehen bieten, das an ausgestreute Glasstückchen erinnert. Nach einiger Zeit zeigen sich, entsprechend den Colonien, kleine, rundliche Vertiefungen, welche der ganzen Gelatine bald das Aussehen einer blatternarbigen Hautfläche geben. Die trichterförmige Vertiefung entsteht durch die Verdunstung des Wassers in der langsam verflüssigenden Gelatine; weit greift die Verflüssigung anfangs nicht (Fig. 48).

Fig. 48.




*In Verflüssigung begriffene Insel des Bacillus cholerae asiaticae auf der Gelatineplatte.*

Auch in der Stichcultur in der Gelatine geht die Verflüssigung sehr langsam vorwärts; besonders zeigt sie sich an der Oberfläche. Auch hier tritt eine Verdunstung der Flüssigkeit auf und es erscheint eine runde Luftblase in der obersten trichterförmigen Einsenkung, die mit der äusseren Luft communiciert. Von dieser Luftblase aus zieht ein dünner Faden längs des Impfstiches. Wenn die Verflüssigung nach der Tiefe greift und die Verdunstung fortschreitet, so ähnelt der Faden, der von der unterhalb der Oberfläche liegenden Luftblase nach abwärts zieht, einem Capillarröhrchen. Schreitet die Verflüssigung noch weiter, so senken sich in dem Impfstiche die Bacillen, und die zusammenhängende Bakterienmasse stellt einen bald dickeren, bald dünneren aufgedrehten Faden dar, der bis an den Boden des Verflüssigungstrichters reicht (Fig. 49). Nach vier Wochen ist die Verflüssigung so weit gediehen, dass die ganze Gelatinemasse flüssig ist.

Die Cholerabacillen gedeihen auch auf den anderen Nährböden ziemlich üppig und bilden in der Nährbouillon eine runzelige,

vielfach gefaltete Membran. Die Nährbouillon selbst bleibt ziemlich klar; nur beim Aufschütteln heben sich die Massen vom Boden und trüben sie.

Sie kommen auch in sterilisierter Milch fort; in der nicht keimfrei gemachten Milch unterliegen sie in Folge der sauren Gährung einer raschen Vernichtung.

Fig. 49.




*Gelatinestichcultur des Cholerabacillus (3. Tag).*

Im sterilisierten Wasser gedeihen sie ziemlich lebhaft und erhalten sich längere Zeit. Die Cholerabacillen finden also an vielen Orten die geeigneten Bedingungen für ihr Wachsthum.

Auf Agar wachsen die Cholerabacillen in Form eines vom Impfstriche ausgehenden, weisslichen Ueberzuges.

Auf Kartoffeln gedeihen sie selbst bei einer schwach sauren Reaction der Kartoffeloberfläche, aber nur bei 30° bis 40°. In der Umgebung der Impfstelle entwickelt sich eine graubraune Schichte, die sich allmälig verbreitert und nahezu das Aussehen der Rotzbacillenculturen darbietet.

Blutserum wird durch das Wachsthum der Cholerabacillen langsam verflüssigt.

Auf Kibitzeiweiss (*v. Hovorka* und *F. Winkler*) bedeckt sich der Impfstrich mit einem Belage, der mehr Licht reflectiert als die umgebende durchsichtige Eiweissmasse und deshalb heller erscheint; bei Lupenvergrösserung zeigt der sich langsam verbreiternde Impfstrich dichtgedrängte, verzerrte, theilweise mit einander verbundene, grauschimmernde Colonien. Eine Verflüssigung des Nährbodens tritt nicht auf.

Bei Choleraerkrankungen finden sich die Bacillen hauptsächlich in der Darmschleimhaut und im Darminhalte, aber nicht im Blute.

Um einen Cholerastuhl auf Bacillen zu untersuchen, mischt man die Entleerung mit der gleichen Menge alkalischer Fleischbrühe und lässt sie in einem offenen Glase 12 Stunden bei 30° bis 40° C. stehen. An der Oberfläche erfolgt eine reichliche Entwicklung, und man erhält bei der Untersuchung Präparate, die nur aus Cholerabacillen bestehen. Um auch ohne das Mikroskop das Vorhandensein von Cholerabacillen zu erkennen, empfiehlt sich der Zusatz von 10 Procent Salzsäure, die bereits nach wenigen Minuten die Choleraculturen rosaviolett färbt (Cholerareaction).

Die Einführung von Bouillonreinculturen in den Magen von Meerschweinchen ergab bei Anwendung von Natriumbicarbonat und Opium eine ausgesprochene Infection *(Koch)*.

Um den schädlichen Einfluss des Magensaftes zu vermeiden und anderseits die Darmperistaltik zu vermindern, unterbanden *Nicati* und *Rietsch* den Ductus choledochus und injicierten direct in das Duodenum. Bringt man Choleraculturen in die Blutbahn, so geht das Versuchsthier auch zugrunde; die Bacillen lassen sich dann in allen Organen nachweisen.

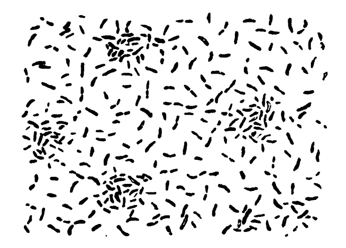
Sehr häufig kommt es darauf an, mit Sicherheit festzustellen, ob man es gegebenen Falles mit den Bacillen der Cholera asiatica oder anderen Mikroorganismen zu thun hat, die den Cholerabacillen in ihrer Form ähnlich sind.

Zu diesen zählt der Vibrio Proteus, der von *Finkler* und *Prior* in den Dejectionen von an Cholera nostras Erkrankten aufgefunden wurde; er dürfte mit dem von *W. D. Miller* in den cariösen Zähnen gefundenen Kommabacillus identisch sein.

Der *Finkler-Prior*'sche Bacillus (Vibrio Proteus) ist etwas grösser und plumper als der *Koch*'sche Bacillus. Seine Spirillen sind niemals so lang wie die Choleraspirillen (Fig. 50).



Fig. 50.

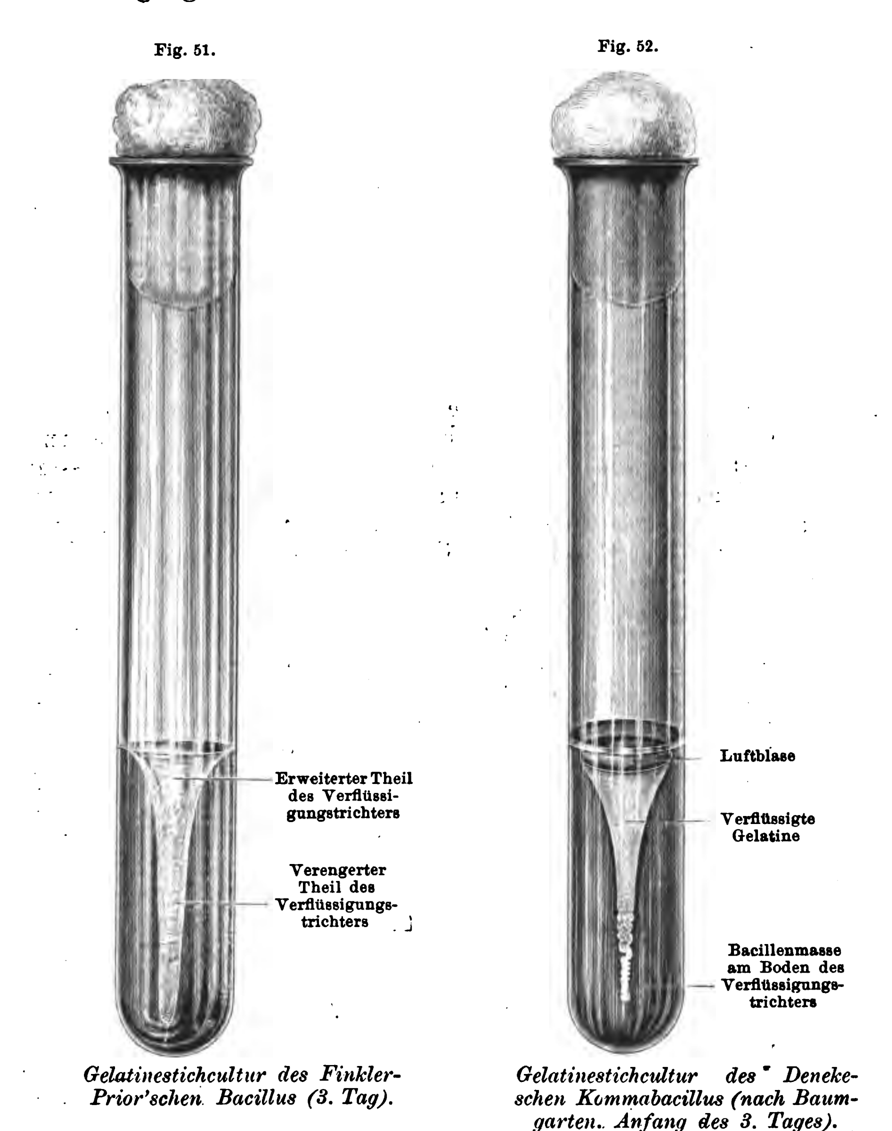


*Bacillen aus einer Finkler-Prior'schen Reincultur (nach Jaksch).*

Die Cultur auf der Gelatineplatte verflüssigt so rasch und so umfangreich, dass der Unterschied zwischen der Cultur des Vibrio Proteus und der Cultur des Cholerabacillus sofort auffallen muss. Impft man zwei Gelatineeprouvetten durch je zwei parallel mit einander laufende Stiche, die eine mit dem Bacillus der Cholera asiatica und die andere in derselben Weise mit dem Vibrio Proteus, so beobachtet man in der letzteren eine rasche Verflüssigung, während diese bei der Cholera asiatica sehr langsam auftritt und sich in einer Einziehung an der Oberfläche zeigt, die durch eine Luftblase ausgefüllt ist. Die Verflüssigung des Vibrio Proteus greift aber weit um sich; es senken sich die Massen der Bacillen zu Boden und man erhält, den beiden Stichen entsprechend, an der Stelle der verflüssigten Gelatine die Form eines hohlen Strumpfes (Hosenbeincultur, Fig. 51). Die Gelatine verflüssigt an der Oberfläche bald derart, dass die beiden Impfstiche in einander übergehen; es bildet sich dabei auf der Oberfläche eine Haut.

Auf Kartoffeln wächst der Vibrio Proteus bereits bei gewöhnlicher Temperatur, während der Cholerabacillus nur bei Bruttemperatur gedeiht.

Auf Kibitzeiweiss tritt rasch ein sehr deutlicher Unterschied zu Tage; die Verflüssigung beginnt bei Vibrio Proteus schon am zweiten Tage, und es tritt bald eine intensive Gelbfärbung der ganzen Nährmasse auf, während bei den Cholerabacillen weder die Verflüssigung noch die Gelbfärbung erscheint. Die Nährmasse fliesst




*Gelatinestichcultur des Finkler-Prior'schen Bacillus (3. Tag).*

*Gelatinestichcultur des Deneke-schen Kommabacillus (nach Baumgarten. Anfang des 3. Tages).*

von der Wandung der Eprouvette gegen den Boden hinunter und sammelt sich hier in einer verhältnismässig dicken Lage an *(v. Hovorka* und *F. Winkler)*.

Schwieriger ist der *Deneke*'sche Kommabacillus vom Cholerabacillus zu unterscheiden. Er wurde von *Deneke* aus altem

Käse gezüchtet. In morphologischer Beziehung ist er kaum vom Cholerabacillus verschieden. Er unterscheidet sich auf der Gelatineplatte vom Cholerabacillus durch die raschere Verflüssigung und durch die gelbliche Färbung der Colonien, die unter dem Mikroskope unregelmässig erscheinen und von einem dicken Walle umgeben sind. Er zeigt gleichfalls in der Stichcultur an dem obersten Theile der trichterförmigen Einsenkung eine Luftblase, die aber grösser als bei der Choleracultur ist (Fig. 52). Auf Kartoffeln zeigt sich bei der Brutwärme ein zarter, gelblicher Rasen aus schön gebildeten Spirillen zusammengesetzt. Auch ihm kommen, ebenso wie dem Vibrio Proteus, pathogene Eigenschaften zu.

Der von *Emmerich* für den Erreger der Cholera angesehene Bacillus neapolitanus (pag. 86) bietet bei der Unterscheidung keine Schwierigkeiten, da seine Elemente kurze, unbewegliche Stäbchen sind, die Gelatine durch sein Wachsthum nicht verflüssigt wird und die Entwicklung besonders auf der Oberfläche der Gelatine vor sich geht.

Der Vibrio Metschnikoffi, der von *Gamaleia* bei einer russischen Hühnerkrankheit im Darminhalte gefunden wurde, ist ein gekrümmtes Bakterium mit längeren, schraubigen Spirillen, das aber kürzer und dicker ist als der Cholerabacillus. Da die Gelatine auf der Platte manchmal so rasch wie bei Vibrio Proteus verflüssigt wird, manchmal aber die Verflüssigung stark verzögert wird, so ist seine genaue Identificierung oft schwierig. Die Stichcultur zeigt eine deutliche Luftblase, die sich allmälig vergrössert und bei der Verflüssigung verschwindet. Auf Kartoffeln wächst er nur bei Bruttemperatur als brauner Belag.

Eine besonders charakteristische Eigenschaft der Cholerabacillen liegt in der Cholerareaction, die von *Bujwid* und *Dunham* entdeckt worden ist. Culturen der Cholerabacillen in peptonhaltigen Nährböden (Bouillon oder Gelatine) geben mit reiner Salzsäure oder mit reiner Schwefelsäure nach kurzer Zeit eine rothviolette oder purpurrothe Farbe. Es entwickelt sich dabei ein bestimmter Farbstoff (Choleraroth). *Salkowski* erklärt diese Reaction für eine Indolreaction, da Indol mit salpetriger Säure eine Rothfärbung gibt. Die Cholerabacillen spalten nämlich aus dem Pepton des Nährbodens Indol ab und entwickeln auch Nitrite, die bei Zusatz einer starken Säure zerlegt werden. Von den anderen, morphologisch und biologisch ähnlichen Mikroorganismen gibt nur Vibrio Metschnikoffi diese Cholerareaction.

Noch sicherer ist nach *Gruber* und *Schottelius* dadurch die Unterscheidung, dass die Cholerabacillen in einer stark verdünnten Bouillon besonders üppig gedeihen und nach wenigen Stunden ein faltiges Häutchen auf der Oberfläche entwickeln, während die übrigen Mikroorganismen kein so rasches Wachsthum besitzen.

Die sicherste Unterscheidung liegt aber wohl in dem oben charakterisierten Wachsthum auf dem Kibitzeiweiss.

*Brieger* vermochte aus den Choleraculturen einige Alkaloide und Toxalbumine herzustellen, darunter Cadaverin, Putrescin und Cholin.

*Pouchet* gewann die Toxine auch aus den Cholerastühlen selbst.

## Typhusbacillus.

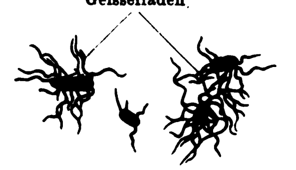
Im Wasser, sowie in den Faeces und den Organen von Typhuskranken kommen die von *Eberth* und *Gaffky* beschriebenen, von *Klebs* und *Eppinger* genauer studierten Typhusbacillen vor, kurze, plumpe Stäbchen mit abgerundeten Ecken, dreimal so lang als breit, die sich zuweilen zu längeren Scheinfäden verbinden (Fig. 53). Nach

Fig. 53.



*Typhusbacillen aus einer Reincultur (nach Jaksch).*

Fig. 54.




*Typhusbacillen (Spinnenzellen) bei 1100facher Vergrösserung (nach Löffler).*

Fig. 55.




*Gelatinestichcultur des Typhusbacillus. 9. Tag (nach Baumgarten).*

*Gaffky* und *Birch-Hirschfeld* besitzen sie Sporen. Die Stäbchen zeichnen sich durch eine lebhafte Eigenbewegung aus, welche nach *Löffler* durch Geisselfäden vermittelt wird; die Bacillen besitzen so zahlreiche Geisseln, dass sie bei geeigneten Färbungen das Aussehen von Spinnen erhalten (Fig. 54).

Sie gedeihen sowohl bei Sauerstoffabschluss, als bei freiem Zutritt von Sauerstoff; in letzterem Falle ist das Wachsthum kräftiger. Sie färben sich mit wässerigen Anilinfarbstoffen; bei Zusatz von verschiedenen entfärbenden Flüssigkeiten geben sie ihre Farbe sehr leicht ab, deshalb ist ihr Nachweis in Geweben mit Schwierigkeiten verbunden. Bei der Färbung der Bacillen ist zu beachten, dass sie bei der Anwendung der *Gram*'schen Methode ihre Farbe vollständig verlieren.

Auf der Gelatineplatte entstehen weissliche Colonien, die oberflächlich liegen und anfangs punktförmig sind. Ihr Rand ist ungleichmässig zackig. Zuweilen liegen sie tiefer und nehmen eine Wetzsteinform an. Bald werden sie gelbbräunlich, namentlich in der Mitte der Insel. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Stichcultur zeigt auf der Oberfläche ein dünnes Wachsthum, das auch an dem ganzen Impfstiche auftritt (Fig. 55).

Nach *Petruschky* gehört der Typhusbacillus zu den Säurebildnern.

Auf Agar, auf Blutserum und auf Kibitzeiweiss gedeiht er als weisser, die ganze Fläche überziehender Belag.

Wenn man zu einem bestimmten Urtheile über das Vorhandensein des Typhusbacillus kommen will, so ist es unerlässlich, eine Züchtung der Bacillen auf Kartoffeln zu versuchen. Bei Zimmertemperatur nach drei bis vier Tagen, bei Bruttemperatur schon nach zwei Tagen, tritt auf der Oberfläche ein feuchter, gleichmässiger Glanz auf, wobei man auch in der unmittelbaren Umgebung des Impfstiches eine Auflagerung nicht sehen kann. Theilchen der Oberfläche einer solchen Kartoffel zeigen aber unter dem Mikroskope die äusserst rasch dahinschiessenden Mikroorganismen. Es ist diese Wachsthumserscheinung namentlich deshalb von Wichtigkeit, um eine Verwechslung mit anderen, im Uebrigen ähnlichen Bakterienarten zu vermeiden, so mit dem *Emmerich*'schen Bacillus, der auf der Kartoffelscheibe einen gelblichen, schmierigen Belag erzeugt. *E. Fränkel* und *Ali Cohen* haben hervorgehoben, dass dieses Wachsthum nur auf der sauer reagierenden Kartoffelscheibe auftritt, weshalb man stets die Reaction der Kartoffeln früher zu prüfen hat. Doch haben schon *Fränkel* u. A., in neuester Zeit *Kamen* auf ein atypisches Wachsthum der Typhusbacillen auf Kartoffeln hingewiesen, indem sich vom Impfstriche aus langsam ein gelblicher, später bräunlich werdender Belag entwickelt, der sich zungenförmig ausbreitet; nach einigen Tagen nimmt die Kartoffel einen violetten Farbenton an.

Als weiteres Erkennungsmerkmal gaben *Chantemesse* und *Widal* die Eigenschaft der Typhusbacillen an, auf einer mit 2promilligen Carbolsäure versetzten Nährgelatine fortzukommen, während die übrigen Mikroorganismen auf dieser Masse zugrunde gehen.

*Rodet* schlug vor, die mit dem zu untersuchenden Wasser geimpfte Gelatine durch $^1/_2$—1 Stunde im Wasserbade auf 45° C. zu erhitzen. Auf diese Weise sollten wenigstens die störenden verflüssigenden Keime eliminiert werden.

*Vincent* empfahl, eine Probe des zu untersuchenden Wassers in eine bei 42° C. gehaltene Bouillon zu übertragen, die mit 5 Tropfen einer 5procentigen Carbolsäurelösung versetzt ist.

*Holz* stellte eine saure Gelatine her, indem er zur gewöhnlichen Nährgelatine den Saft roher Kartoffeln zusetzte; auf diesem Nährboden kommt nur eine sehr geringe Zahl von indifferenten Arten fort, während die Typhusbacillen charakteristisch wachsen.

*Parietti* setzt zu mehreren Eprouvetten mit je 10 Ccm. einer neutralen Bouillon 3—9 Tropfen einer Salzsäurephenollösung (4 Grm. Salzsäure mit 5 Grm. Carbolsäure auf 100 Grm. Wasser) zu, bringt sie auf 24 Stunden in den Brutofen und beschickt sie dann mit 1—10 Tropfen des zu untersuchenden Wassers; wenn nach 24stündigem Aufenthalte im Brutschranke eine Trübung auftritt, so lässt sich ein sicherer Schluss auf die Anwesenheit von Typhusbacillen ziehen.

Intravenöse Einspritzungen tödten die Kaninchen ungefähr nach 24 Stunden. Im Harn, im Blute und in den Dejectionen lassen sich die Typhusbacillen nachweisen.

Die Infection erfolgt insbesondere durch bacillenhältiges Trinkwasser, aber auch durch Milch und Wäsche.

Sie sind im Stande, dem Einflusse des Magensaftes Widerstand zu leisten. Sobald sie in den Darmcanal gelangen, dringen sie in die Saftbahnen ein und werden durch den Lymphstrom in die anderen Organe, insbesondere Milz und Leber, gebracht. *Eberth* hat nachgewiesen, dass sie auch in die Placenta und auf diesem Wege in den Fötus gelangen können.

## Bacterium coli commune.

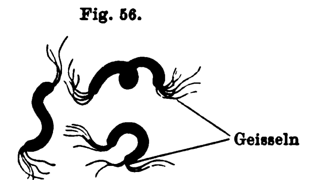
*Rodet* und *Roux* fanden im Wasser von Orten, in denen Typhus herrschte, das Bacterium coli commune, das von *Escherich* im Darmcanale des Säuglings constant angetroffen wurde. Es besteht aus schlanken, kurzen Stäbchen von träger Beweglichkeit, die bald einzeln, bald paarweise auftreten und sich nach der *Gram*'schen Methode entfärben. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Colonien haben die Tendenz, sich oberflächlich als dünnes Häutchen auf dem Nährboden auszubreiten; sie zeigen eine mattweisse Farbe und einen unregelmässig gebuchteten Rand. In der Stichcultur treten längs des Stichcanales weisse Knöpfchen auf und oberflächlich eine zarte Ausbreitung. Auf Kartoffeln entwickeln sich gelbe, saftige Colonien; auf Blutserum entsteht ein weisser Belag. Der Mikroorganismus kann sich auf traubenzuckerhältigem Nährboden auch ohne Sauerstoffzufuhr entwickeln und erzeugt dann ein aus Wasserstoff und Kohlensäure bestehendes Gas. Kaninchen erliegen einer subcutanen Injection nach 1—3 Tagen unter Diarrhöen und Collaps.

Nach *Gasser* wird ein mit Fuchsin gefärbter Agarnährboden nur durch den Typhusbacillus und das Bacterium coli commune entfärbt. Zur Unterscheidung dieser beiden soll das Merkmal dienen, dass das Wachsthum des Bacterium coli commune auf den Impfstrich beschränkt bleibt, während das des Typhusbacillus einen ziemlich breiten Strich mit sehr ausgebuchteten und unregelmässigen Rändern erzeugt.

## Spirillen im Wasser.

In stagnierendem Wasser findet man sehr zahlreiche Spirillen, die sich durch eine äusserst rege Beweglichkeit auszeichnen und unter den mannigfachsten Biegungen das Gesichtsfeld durchschiessen. Sie liegen oft in Haufen zusammen, die dem Auge als schleimige Flocken

Fig. 56.




*Spirillum undula mit Geisselfäden, nach Löffler. (Vergrösserung 800fach.)*

erscheinen. Die einzelnen Spirillen besitzen $1^1/_2$—4 Windungen, mitunter sogar sechs Windungen und an den Enden einige Geisseln. Man bezeichnet sie als Spirillum undula (Fig. 56).

## Andere Mikroorganismen des Wassers.

Eine beträchtliche Anzahl der in der Luft vorkommenden Mikroorganismen findet auch im Wasser einen geeigneten Nährboden; sie sind daher stets bei den verschiedenen Wasseruntersuchungen angetroffen worden. Zu ihnen gehören Micrococcus radiatus, Micrococcus cinabareus, Micrococcus flavus liquefaciens, Micrococcus desidens, Micrococcus flavus tardigradus, Micrococcus candicans, Micrococcus viticulosus, Staphylococcus pyogenes aureus, Staphylococcus pyogenes albus, Staphylococcus cereus albus, Sarcina alba, Sarcina candida, Bacillus subtilis, Bacillus multipediculosus etc., ausserdem einige Milchschädlinge, die ihre Beschreibung bei der Milch finden werden.

# Analyse des Bodens.

Die Untersuchung des Bodens ergibt, dass sehr viele Mikroorganismen, die in der Luft und im Wasser fortkommen, auch im Boden gedeihen können. Ferner geht bei jedem Fäulnisprocess auf der Oberfläche der Erde ein Oxydationsprocess oder eine Verwesung von organischen Stoffen unter Mitwirkung von Sauerstoff vor sich. Bei allen diesen Processen wird einer ziemlichen Anzahl von Mikroorganismen die Möglichkeit geboten, sich zu erhalten und zu vermehren. In der Landwirtschaft wird der Boden gedüngt, um ihm die Möglichkeit zu bieten, dass die organischen hoch zusammengesetzten Stoffe auf der Oberfläche des Erdbodens in einfache Verbindungen zerlegt werden, welche den Pflanzen als Nahrung dienen und von ihnen assimiliert werden, um abermals in höhere Verbindungen umgewandelt zu werden. Bei diesem Verwesungsvorgange sind Bakterien in hervorragender Weise thätig. Man ersieht hieraus, dass die Oberfläche der Erde sehr reich an verschiedenen Keimen ist, dass jedoch schon 1—2 M. unter der Oberfläche der Bakteriengehalt ziemlich plötzlich abnimmt und dass man weiter unten, in 3—4 Meter Tiefe, den Boden vollständig keimfrei findet; die Grundwasserhöhe des Bodens ist ziemlich frei von Mikroorganismen, daher weist auch das Quellwasser nur sehr wenige Mikroorganismen auf; zweckmässig eingerichtete und gereinigte Röhrenbrunnen liefern deshalb auch ein keimarmes oder sogar keimfreies Wasser *(C. Fränkel)*.

Das Grundwasser verdankt seine Keimfreiheit nach *Kirchner* der filtrierenden Kraft des Bodens; wo also der Boden zu grobkörnig und zu weitmaschig ist, da lässt die filtrierende Kraft im Stiche und alle oder ein Theil der in den oberen Bodenschichten vorhandenen Keime gehen ungehindert in's Grundwasser über. Nach *Reimers* wachsen die in der Tiefe enthaltenen Keime langsamer als solche, die aus oberflächlichen Bodenschichten stammen.

Wenn man die Erde, auch Fenster- und Zimmerstaub auf Mikroorganismen untersuchen will, so wird eine kleine Probe, womöglich frisch, entnommen und in eine sterilisierte Nährgelatine, die verflüssigt wurde, aber nicht zu heiss ist, gebracht, um nach der *Esmarch*'schen Methode eine Rollcultur anzulegen; die Rollculturen sind deshalb den Platten vorzuziehen, damit sich in der Eprouvette die kleinen Bodenpartikeln nicht an den Grund des Röhrchens senken und beim Ausgiessen der Platte verloren gehen.

Um aus verschiedener Tiefe die Erde zu entnehmen, werden Instrumente verwendet, unter denen besonders ein von *C. Fränkel* construierter Bohrer in Gebrauch steht.

Hat man in der Rollcultur die einzelnen Inseln isoliert, so werden diese auf verschiedene Platten übertragen, um Reinculturen der betreffenden Organismen zu erhalten.

Untersuchungen auf anaërobe Mikroorganismen werden nach den oben angeführten Methoden ausgeführt.

Sehr verbreitet ist im Boden ebenso wie in der Luft der braune Schimmelpilz (pag. 74). Von Mikrokokken finden sich einige, welche die Gelatine verflüssigen. Im allgemeinen sind die Kokken zahlreicher als, die Bakterien.

## Bacillus mycoides (Erdbacillus).

*Flügge* fand als sehr häufigen Gast in Acker- und Gartenerde einen Mikroorganismus, dessen Stäbchen den Anthraxstäbchen sehr ähnlich sind, sich aber von ihnen durch eine lebhafte Eigenbewegung unterscheiden. Die Gelatine wird verflüssigt. Auf der Gelatineplatte erscheinen mycelartig sich verzweigende Colonien, so dass die Platte wie mit Schimmelpilzen bewuchert erscheint. In der Stichcultur tritt die Verflüssigung an der Oberfläche schon am zweiten Tage auf. Vom Impfstiche gehen sehr zarte, feine, verzweigte Fäden nach allen Seiten aus, welche ziemlich gleich lang sind; dadurch unterscheidet er sich vom Bacillus ramosus, dessen Ausläufer nach unten zu an Grösse abnehmen (Fig. 57). Auf Agar entwickeln sich ebenfalls mycelartige Verzweigungen, die anfangs einem Federbarte ähnlich sind; allmälig überzieht sich die Oberfläche mit einem dicken Belag. Auf Blutserum erscheint schon nach 24 Stunden ein unregelmässig begrenzter, gekörnter Belag, der sich farnähnlich auf der Oberfläche ausbreitet. Kartoffeln zeigen sich nach zwei Tagen mit einem feinen, dichten, mycelartigen Geflechte von Fasern überzogen.

Fig. 57.



*Gelatinestichcultur des Bacillus mycoides (4. Tag).*

## Bacterium mycoides roseum.

Das von *Scholl* und *Holschewnikoff* beschriebene Bacterium mycoides roseum zeigt ziemlich grosse Stäbchen, die unbeweglich

sind. Auf der Gelatineplatte zeigt sich bald eine rothe Farbe an den mit einander zusammenhängenden Colonien, die sehr bald verflüssigen. Die Stichcultur zeigt gleichfalls eine schnelle Verflüssigung mit einer rothgefärbten oberflächlichen Haut und einem roth gefärbten Bodensatze, ohne dass aber die Gelatine gefärbt erscheint. Die Entwicklung geht bei Zimmertemperatur vor sich. Strichculturen auf Agar, im Dunkel gezüchtet, geben eine schöne Rosafarbe, während die im Lichte gewachsene Cultur weiss ist. Die Lösungen der rothen Farbe zeigen vor dem Spalte eines Spectroskopes einen Absorptionsstreifen in Grün.

## Bacillus radiatus.

*Lüderitz* fand in der Erde und im subcutanen Gewebssafte weisser Mäuse, die mit Gartenerde geimpft wurden, den Bacillus radiatus, dessen Stäbchen leicht beweglich sind. Das Wachsthum ist ein anaërobes. Die Gelatine wird verflüssigt. Auf der Gelatineplatte, in der hohen Stichcultur und auf Agar erscheint ein Gewirre von anastomosierenden Fäden, die an die strahligen Formen von Schimmelpilzen erinnern. Bei Culturen im Blutserum oder in Zuckergelatine entwickelt sich ein sehr unangenehm riechendes Gas.

## Bacillus spinosus.

Im Gewebssafte der mit Gartenerde geimpften weissen Mäuse fand *Lüderitz* auch den Bacillus spinosus, der ebenfalls nur anaërob sich entwickeln kann. Die Gelatine wird verflüssigt. In hoher Cultur sieht man schon nach zwei Tagen kleine, punktförmige Verflüssigungen, die bald strahlige Ausläufer bekommen; in späteren Stadien sieht man an der über dem Impfstiche befindlichen Gelatineschichte eine Erweiterung derselben, ebenso unterhalb derselben; so kommt es zur Sanduhrform der verflüssigten schleimigen Masse. Auch dieser Bacillus entwickelt ein Gas, das auf Gelatinezuckerculturen einen käseartigen Geruch besitzt.

## Bacillus liquefaciens magnus.

Im subcutanen Gewebssafte der mit Gartenerde geimpften Thiere fand *Lüderitz* den Bacillus liquefaciens magnus aus grossen, an den Enden abgerundeten, lebhaft beweglichen Stäbchen bestehend, der ebenfalls anaërob ist. Sein Wachsthum ähnelt dem der Schimmelpilze und verflüssigt die Gelatine; in der Stichcultur tritt keine sanduhrförmige, sondern eine mehr cylindrische, wurstförmige Verflüssigung auf. Auf Agar entwickeln sich moosartige Colonien. Das von ihm erzeugte Gas riecht sehr unangenehm, an Zwiebel erinnernd.

## Bacillus scissus.

*Frankland* fand im Boden den Bacillus scissus, der die Gelatine nicht verflüssigt; er zeigt kurze, dicke, unbewegliche Stäbchen; auf der Gelatineplatte entwickeln sich oberflächliche

Colonien; in der Stichcultur tritt längs des Stichcanales kein Wachsthum auf, aber auf der Oberfläche ein unregelmässiger, glattgerandeter Belag. Die Gelatine wird schwach grün gefärbt.

In der Erde finden sich ausserdem eine ganze Reihe verschiedener Mikroorganismen, unter denen besonders der Bacillus ramosus und der Bacillus subtilis auftreten; es kommt ihnen aber nach den bisherigen Untersuchungen keine Bedeutung zu.

## Clostridium foetidum.

Unter Clostridien versteht man jene Bacillenformen, die in der Mitte ihres Leibes Sporen entwickeln, so dass durch die Auftreibung in der Mitte und die Zuspitzung der Enden deutliche Spindelformen entstehen (siehe Fig. 1).

Das Clostridium foetidum ist nach *Liborius* ausgesprochen anaërob; es zeigt Stäbchen von verschiedener Länge mit lebhafter Beweglichkeit. Man kann sie sehr leicht künstlich züchten, wenn man die Bedingungen zu erfüllen sucht, welche für die Züchtung der Anäroben nothwendig sind. Die Gelatine wird in Form von rundlichen, kugelförmigen Trübungen, die innerhalb der Gelatinemasse auftreten, verflüssigt. Strichculturen auf Agar geben kleine Häufchen mit kurzen Ausläufern; im Blutserum treten gleichfalls in der Tiefe Colonien mit unregelmässigen Verästelungen auf. In den Culturen macht sich eine Gasentwicklung geltend, deren übler Geruch dem Mikroorganismus den Namen gab.

## Bacillus oedematis maligni.

*Coze* und *Feltz* fanden bei ihren Studien über Septikämie bereits im Jahre 1872 einen Mikroorganismus, der von *Pasteur* genauer beschrieben wurde und den Namen Vibrion septique (Bacillus septicus) erhielt. *Koch* nannte ihn den Bacillus oedematis maligni. Man findet die Bacillen in den oberflächlichen Schichten der Gartenerde und im Staube aus den Füllungen der Zimmerböden, sowie in verschiedenen, der Zersetzung anheimgefallenen, faulenden Stoffen. *van Cott* fand sie auch in unverarbeiteten Moschusbeuteln und erklärte dadurch die Thatsache, dass mitunter nach Injection von Moschustinctur die Patienten an malignem Oedem erkranken.

Zweckmässig wird die Untersuchung derart vorgenommen, dass man einem Kaninchen oder einem Meerschweinchen eine Messerspitze voll Erde unter die Bauchhaut bringt. Nach 24—28 Stunden geht das Thier zu Grunde und man findet die Bacillen in der Oedemflüssigkeit und an der Oberfläche der Organe, aber nicht in den Blutgefässen, während die Milzbrandbacillen sich im Blute finden. Auch durch ihr Aussehen unterscheiden sie sich wesentlich von den Milzbrandbacillen, da sie schlanker als diese und an den Enden spitz abgerundet sind; sie vereinigen sich zu gekrümmten Fäden. Sie zeigen Eigenbewegung, welche nach *R. Pfeiffer* durch Geisselfäden vermittelt wird. Sie bilden mittelständige Sporen.

Im hängenden Tropfen verlieren sie bald ihre Beweglichkeit, da sie bei Zutritt des Sauerstoffes absterben; sie sind nämlich streng

anaërob. Sie wachsen bei Zimmertemperatur und bei Bruttemperatur. Durch Anilinfarben werden sie bald gefärbt, geben aber bei Anwendung der *Gram*'schen Methode den Farbstoff leicht ab. Bei der Unterscheidung zwischen dem Bacillus des malignen Oedems und dem Milzbrandbacillus ist also auf die Form, auf die Beweglichkeit, auf die Vertheilung in den Organen, auf die Färbung und auf das Verhalten zum Sauerstoffe Wert zu legen.

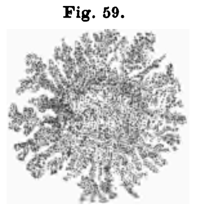
Fig. 58.




*Anaërobe Cultur des Bacillus oedematis maligni in Glycerin-Agar (nach Fraenkel und Pfeiffer).*

In Gelatineculturen, die mit Rücksicht auf ihre strenge Anaërobiose angelegt werden müssen, findet man kleine Colonien, deren Inhalt bald verflüssigt; jede Colonie stellt dann eine flüssige Kugel innerhalb der Gelatine vor. Bei der hohen Cultur nach *Liborius* sieht man bald eine weite Zersetzung des Nährbodens, der in eine trübe Flüssigkeit umgewandelt wird, gleichzeitig auch eine reiche Entwicklung von Gasblasen. Ein Zusatz von Traubenzucker zur Gelatine dürfte sich als zweckmässig erweisen (Fig. 58). Auf Agar zeigen sich schon nach 8 Stunden trübe, matte, rauchartige, nicht streng begrenzte Colonien, die aus einem dichten Netze fein granulierter Fäden bestehen und linsenförmige Gasbläschen entwickeln. Die Gasentwicklung ist so reichlich, dass dicke Agarschichten gegen den oberen Theil der Eprouvette geworfen werden, während sich am Grunde derselben eine beträchtliche Menge einer condensierten, trüben, weisslichen Flüssigkeit ansammelt. In Kartoffeln entsteht bei Bruttemperatur ein Netzwerk von Bacillen. Die

Fig. 59.



*Insel des Bacillus des malignen Oedems (Bac. septicus) auf der Gelatineplatte (nach Macé).*

geeignetste Temperatur liegt zwischen 37° und 39°; unter 16° entwickelt er sich nicht. Die Sporen liegen an einem Ende der Stäbchen und sind sehr resistent.

Häufig findet man neben ihm den Bacillus spinosus, der gleichfalls aus der Gartenerde übertragen wird; er lässt sich vom

Bacillus des malignen Oedems dadurch unterscheiden, dass er zwar anaërob ist, dass aber seine Stäbchen keine Beweglichkeit besitzen und eine andere Form aufweisen.

Bei der Section der Thiere findet man ein Oedem mit röthlicher, bacillenreicher, gasblasenhaltiger Flüssigkeit; Bacillen sind auch in grosser Zahl in der Peritonealflüssigkeit vorhanden.

Die Bouilloncultur bleibt längere Zeit, selbst mehrere Monate hindurch, infectiös.

Bei der Maus dringen die Bacillen aus den Geweben, wahrscheinlich unter Durchsetzung der Gefässwandungen, in die Blutbahnen ein.

Nach *Penzo* entwickeln sich die Bacillen des malignen Oedems trotz ihrer strengen Anaërobiose auch in gewöhnlichen, vom Sauerstoff nicht freien Culturen, wenn man diese gleichzeitig mit dem Bacillus prodigiosus oder dem Proteus vulgaris impft.

Nach *Kerry* zerlegen die Bacillen des malignen Oedems das Eiweiss und erzeugen die gewöhnlichen Fäulnisprocesse und ausserdem einen äusserst giftigen öligen Körper, der sich durch die Oxydation der Valeriansäure bildet.

## Tetanusbacillus.

Der Tetanusbacillus wurde in der Gartenerde und im Wundeiter von an Tetanus Verstorbenen von *Nicolaier* gefunden; schon

Fig. 60.

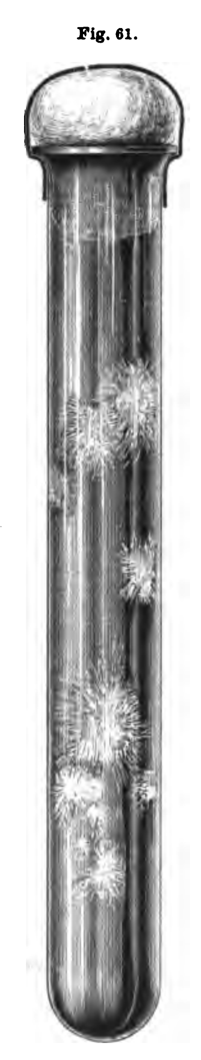


*Tetanusbacillen mit endständigen Sporen.*

*Carle* und *Rattone* hatten festgestellt, dass der Tetanus übertragbar sei. Die Versuche bewiesen, dass diese Bacillen schlanke, borstenartige Stäbchen mit endständigen, kreisrunden Sporen (Köpfchensporen) mit geringer Eigenbewegung sind, welche sich häufig zu Ketten oder Häufchen ordnen (Fig. 60). Der Tetanusbacillus ist streng anaërob und kommt sehr häufig mit anderen Anaëroben zusammen vor, so dass man annahm, dass mehrere dieser anaëroben Mikroorganismen vereinigt als Erreger der Krankheit aufzufassen sind. Man bezeichnete dies als Symbiose.

Die Bacillen vertragen eine ziemlich hohe Temperatur (ungefähr 80°), ohne ihre Pathogenität zu verlieren. Das Gedeihen der Bacillen erfolgt am besten bei Bruttemperatur. Die Eigenschaft, dass die Sporen einer hohen Temperatur ausgesetzt werden können, ohne an ihrer Lebensfähigkeit einzubüssen, ermöglichte es, dass *Kitasato* Reinculturen des Tetanusbacillus herstellen konnte. Bei einer Temperatur von 80° werden die anderen mitcultivierten Bacillen getödtet, und es ist nun nicht schwer, aus den lebend gebliebenen

Fig. 61.



*Anaërobe Gelatinecultur des Tetanus-bacillus (nach Fraenkel und Pfeiffer).*

Tetanusbacillen eine Reincultur herzustellen. Man streicht eine Spur Eiter eines an Tetanus Erkrankten auf schräg erstarrtem Blutserum oder auf Agar aus, stellt diese Culturen auf einige Tage in den Brutofen und bringt sie dann zur Abtödtung der mitgewachsenen Mikroorganismen auf $^1/_2$—1 Stunde in ein auf 80° erhitztes Wasserbad. Hierauf geht man zum Plattenverfahren, am besten in einer Wasserstoffatmosphäre, über. Der Gelatine wird zweckmässig 1—2 Procent Traubenzucker zugesetzt. Die Platten zeigen Colonien, die nach allen Seiten einen Strahlenkranz besitzen; die Verflüssigung tritt langsam ein und verbindet sich mit einer Gasbildung (Fig. 61). In der hohen Cultur entwickelt sich eine nach allen Seiten ausstrahlende Wolke, die später verflüssigt.

Wird mit einer Reincultur eine Infection vorgenommen, so finden sich die Stäbchen nur an der Infectionsstelle und in deren nächsten Umgebung.

Um die Sporen abzutödten, müssen sie durch fünf Minuten der Einwirkung des Wasserdampfes von 100° ausgesetzt werden.

## Streptococcus septicus.

*Nicolaier* und *Guarneri* fanden in unreiner Erde den Streptococcus septicus, der nicht in allen Fällen eine Kettenform zeigt und in den Organen der inficierten Thiere in Diplokokkenform auftritt. Die Gelatine wird nicht verflüssigt; auf der Platte entwickeln sich schon bei Zimmertemperatur kleine Punkte. Werden Mäuse mit unreiner Erde geimpft, so sterben sie ausnahmslos innerhalb dreier Tage; vor dem Tode treten an den hinteren Extremitäten Lähmungserscheinungen auf; in den Organen und dem Blute findet man überall Diplokokken, welche die Gefässe verstopfen können.

## Bacillus anthracis.

Auf der Oberfläche des Bodens findet sich auch der Bacillus anthracis (Milzbrandbacillus), dessen Stäbchen bereits von *Pollender* im Jahre 1849 im Blute milzkranker Thiere gesehen, aber erst von *Koch* genauer untersucht wurden. Sie werden nach *Pasteur* durch Regenwürmer verschleppt.

Es sind grosse, gleichförmige Stäbchen mit scharf abgeschnittenen Enden, die in Ketten geordnet sind und aus Gliedern von wechseln-

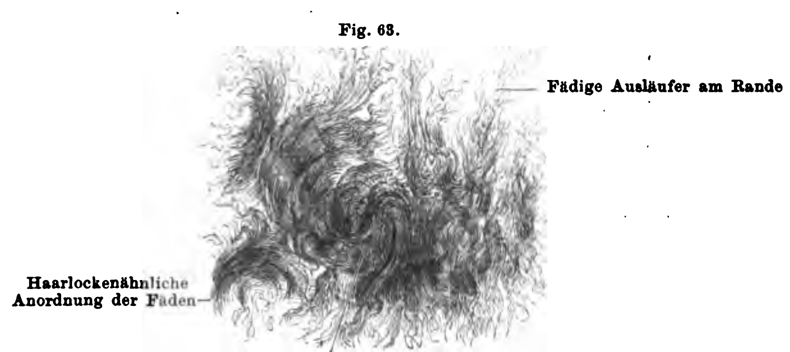
Fig. 62.




*Anthraxbacillen.*

der Länge bestehen (Fig. 62). Sie sind unbeweglich, und wenn man hier und da Bewegungen der einzelnen Stäbchen sieht, so scheinen sie nur durch Flüssigkeitsströmungen bedingt zu sein. Sie gedeihen sowohl bei Zimmertemperatur, als auch im Wärmeschranke, wachsen unter 12—14° C. nicht und haben ihre oberste Grenze der Lebensfähigkeit bei 45° C. Wenn man die Zellen gefrieren lässt, so erlangen sie nach *v. Frisch* bei höherer Temperatur die Fähigkeit der Weiterentwicklung wieder. Sporenbildung ist deutlich zu beobachten.

Fig. 63.




*Haarlockenähnliche Colonie des Anthraxbacillus auf der Gelatineplatte (3. Tag).*

Die Zellen färben sich leicht mit Anilinfarbstoffen und geben bei Anwendung der *Gram*'schen Methode die Farbe nicht ab. Dieses Verhalten ist besonders beim Nachweis der Bacillen im Blute oder in den Organen wichtig. Man entnimmt gewöhnlich der Milz eine Spur, verreibt dieses Material zwischen zwei Deckgläschen und unterzieht sie der *Gram*'schen Färbungsmethode: die Erwärmung darf nicht zu weit gehen, da sonst innerhalb des membranösen Ueberzugs das Protoplasma der Zellen in feine Körnelungen überführt wird.

Zur raschen Färbung wird auch Carbolfuchsin oder Carbolmethylenblau angewendet. Zuweilen findet man die Enden kolbig verdickt und mit einer flachen Vertiefung bei den Zellen, wodurch zwischen den einzelnen Zellen eine ovale Lichtung oder den Verdickungen entsprechend das Bild eines Bambusrohres entsteht. Um diese letzte Form hervorzubringen, empfiehlt sich die Doppelfärbung mit Bismarckbraun und Methylenblau. Wird der Milzbrandbacillus in Bouillon gezüchtet, so erhält man lange Fäden, die unter einander gleich einem Haarzopfe verfilzt sind. Dieses Bild tritt schon nach 24 Stunden auf. Auf der Gelatineplatte zeigen sich schon nach 1—2 Tagen kleine weisse Pünktchen, die den Nährboden bald verflüssigen und auf der verflüssigten Masse herumschwimmen. Unter dem Mikroskope zeigen sich die Colonien aus unregelmässig angeordneten Fäden bestehend, was besonders am Rande der Colonie ausgeprägt ist und mit dem Haupte der Medusa verglichen wurde (Fig. 63). Klatschpräparate von oberflächlichen Colonien zeigen die Ausläufer und Fortsätze sehr deutlich. Auf Agarplatten sieht man bei Bruttemperatur schon nach 24 Stunden ähnliche Gebilde wie auf Gelatineplatten. Die Stichcultur in der Gelatine zeigt eine Verflüssigung, die an der Oberfläche beginnt; vom Impfstiche aus dringen zarte Fäden in die Gelatine (Fig. 64). Ist die Verflüssigung weiter vorgeschritten, so senken sich die Bacillen an den Boden des Verflüssigungstrichters, ohne dass an der Oberfläche eine deckende Haut auftritt. Von den tiefsten Stellen der Verflüssigung dringen Fortsätze in die unverflüssigte Gelatine ein. Die Stichcultur auf Agar bildet einen Belag, der sich mit der Platinnadel leicht abheben lässt. Blutserum wird langsam verflüssigt; auf Kartoffeln entwickelt sich ein weisser, trockener Ueberzug und eine beträchtliche Sporenbildung. Desinficierte Seidenfäden werden häufig mit solchen Sporen getränkt, getrocknet und zu Versuchen aufbewahrt.

Fig. 64.




*Gelatinestichcultur des Anthraxbacillus am 4. Tage.*

Die Infectionsversuche, die an verschiedenen Thieren sowohl durch Impfung als auch durch Inhalation, ebenso auch durch Aufnahme durch den Verdauungstract nach vorheriger Neutralisation des Magensaftes vorgenommen wurden, tödten die Thiere vor Ablauf von 48 Stunden. Bei Fröschen ist eine Impfung nur dann erfolgreich, wenn die Frösche bei einer höheren Temperatur erhalten werden. Gelangen

die Bacillen an eine epithelhaltige Stelle, so entwickeln sie sich hier längere Zeit local, bis die Epithelien durchbrochen sind und die Infection stattfinden kann; so entsteht die Pustula maligna. Nach *Paltauf* und *Eiselsberg* ist die Hadernkrankheit, welche bei Lumpensortierern, besonders in Papierfabriken, auftritt, mit dem Lungenmilzbrand identisch.

Wegen Sauerstoffmangel kommt es im Körper nicht zur Sporenbildung. Unter Zutritt des Sauerstoffes ist es möglich, dass sie auf der Oberfläche des Erdbodens zur Entwicklung kommen; dies macht bei Behandlung von Anthraxleichen eine grosse Vorsicht nöthig.

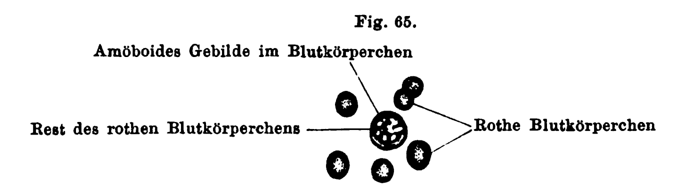
Will man an Thieren einen Versuch machen, so erfolgt dies zweckmässig an weissen Mäusen, die in der Nähe des Schwanzes in eine Hauttasche geimpft werden. Das Thier geht innerhalb 48 Stunden zugrunde; man findet die Milz stark vergrössert und sowohl in der Milz als auch im Blute zahlreiche Milzbrandbacillen. Eine Spur des Blutes oder der Milzpulpa wird nun dazu verwendet, um eine Gelatineplatte zu giessen; nach wenigen Tagen finden sich die charakteristischen Inseln, aus denen eine Reincultur hergestellt werden kann.

*Hankin* gewann aus den Anthraxculturen einen ausserordentlich giftigen Eiweisskörper, während *Martin* die Virulenz einem Alkaloid zuschreibt.

## Malariaplasmodien.

Die Protozoen, die mit der Malaria in Zusammenhang gebracht werden, stehen in nahen Beziehungen zum Boden. Sie führen den Namen Plasmodium malariae. An ihre Entdeckung knüpfen sich die Namen *Laveran*, *Marchiafava*, *Celli*, *Golgi* und *Guarnieri*.

Fig. 65.

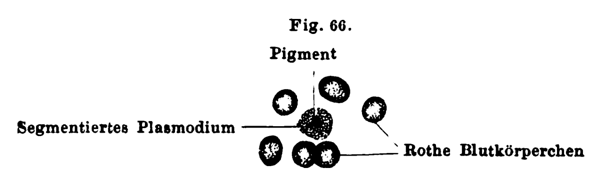



*Malariaplasmodium aus dem Blute des Menschen (in der Zeit der Apyrexie).*

Nimmt man von Intermittenskranken im Beginne des Fieberanfalles einen Tropfen Blut, so findet man innerhalb der Erythrocyten kleine, rundliche, amöboide Gebilde, die sich von dem Protoplasma der Blutkörperchen schwer unterscheiden lassen (Fig. 65). Leichter stellt man sie dar, wenn man Blutkörperchen auf dem Deckgläschen durch Abstreifen mit dem Rande eines zweiten Deckgläschens aufträgt, trocknen lässt und mit wässeriger Methylenblaulösung färbt; nach *Celli* und *Guarnieri* empfiehlt es sich, das Methylenblau in Blutserum oder in Ascitesflüssigkeit aufzulösen und es von der Seite her auf ein nicht angetrocknetes Blutpräparat treten zu lassen. Während des Fieberanfalles leiten die Plasmodien Veränderungen des Blutkörperchens ein, welche eine Umwandlung des Hämoglobins in Melanin veranlassen. Bei der Untersuchung des Blutes nach dem Fieberanfalle

sind die Blutkörperchen blasser und zeigen im Innern Anhäufungen von kleinen Körnchen des schwarzen Pigmentes (Melanämie). Diese Pigmentbildung führt so weit, dass die Blutkörperchen gänzlich vernichtet werden. Nach *Golgi* geht die Pigmentbildung zwischen je zwei Fieberanfällen vor sich. Die Vermehrung der Plasmodien erfolgt auf dem Wege der Segmentation, und die neuen Plasmodien haften anfangs am Rande des Blutkörperchens, werden frei und treten dann wieder in andere Blutkörperchen ein (Fig. 66). Der Segmentationsprocess soll sich nach *Golgi* bei einigen Plasmodien in zwei, bei anderen in drei Tagen so weit vollziehen, dass die ab-

Fig. 66.

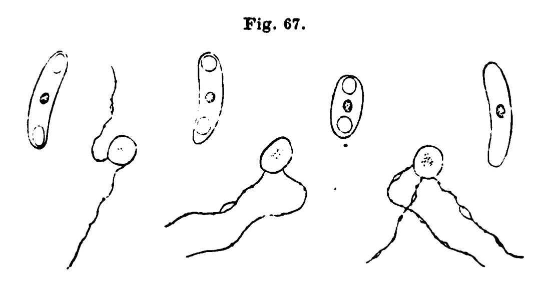



*Malariaplasmodium im Stadium zur Zeit des Beginnes des Fiebers.*

geschnürten Stücke frei werden; so erklärt er die Febris tertiana und quartana; die Febris quotidiana wird durch das Vorhandensein beider Plasmodienarten bedingt, indem die neuen Sporen der einen an dem ersten, die Sporen der anderen an dem zweiten Tage frei werden.

Bei der Malariakachexie findet man ausser den Plasmodien noch sichelförmige Körperchen innerhalb der Blutkörperchen (*Laveran*sche Sicheln). Zuweilen werden auch geisseltragende Formen beobachtet (Fig. 67).

Fig. 67.



*Halbmondförmige, sichelförmige Körperchen und freie geisseltragende Körperchen (nach Jaksch).*

An den Plasmodien unterscheidet man einen äusseren, stark lichtbrechenden Theil, der die Farbe leicht aufnimmt (Ektoplasma) und einen inneren, schwach färbbaren Theil (Entoplasma), der von dem äusseren Theile ringförmig umschlossen wird. Nach *Mannaberg* und anderen Forschern findet sich in dem Entoplasma ein excentrisch gelegener Kern mit Kernkörperchen.

Die künstliche Züchtung ist bisher noch nicht gelungen; man hat die Plasmodien nur im lebenden Blutegel zu erhalten vermocht, da sie nach *Rosenbach* im Verdauungscanale des Blutegels mindestens 48 Stunden leben bleiben.

Die einfachste Färbungsmethode ist nach *Grassi* und *Feletti* folgende: Man bringt einen kleinen Tropfen Malariablut auf ein Deckgläschen, dreht dieses um und legt es auf einen Objectträger, auf dem sich ein Tropfen einer wässerigen Methylenblau- oder Fuchsinlösung befindet. Um das Blut mit der Farbflüssigkeit zu mischen, genügt es, das Deckgläschen auf einer Seite ein wenig aufzuheben und wieder fallen zu lassen. Durch diese Methode erscheint der Kern stärker gefärbt als der übrige Theil des Parasitenkörpers.

Zum Studium der Lebensvorgänge der Malariaparasiten hat *Mannaberg* folgende Methode in Anwendung gebracht: Das lufttrockene Präparat wird auf 12—24 Stunden in eine Mischung von concentrierter Pikrinsäurelösung und destilliertem Wasser zu gleichen Theilen mit Zusatz von 3—5 Procent Eisessig gebracht, dann bis zur vollständigen Entfärbung in absoluten Alkohol gelegt, mit Alaunhämatoxylinlösung nachgefärbt und in 25procentigem Salzsäurealkohol und schwachem Ammoniakalkohol differenziert. Die Präparate zeigen die rothen Blutkörperchen und das Protoplasma der Leukocyten ungefärbt, die Leukocytenkerne und die Plasmodien stark gefärbt.

*Malachowski* legt die Deckgläschenpräparate in Alkohol und färbt in einer Mischung von Eosinlösung und verdünnter wässeriger Boraxmethylenblaulösung. Die rothen Blutkörperchen werden gelbroth, die Leukocytenkerne violett und die Plasmodien blau.

*Aldehoff* empfiehlt, das Blut auf einem Deckgläschen in möglichst dünner Schicht auszubreiten, im Exsiccator zu trocknen und im Trockenkasten einer Temperatur von 120° C. durch 10—12 Stunden auszusetzen. Das Deckgläschen wird nun in eine concentrierte alkoholische Eosinlösung auf eine halbe Stunde oder bei gleichzeitigem Erwärmen auf 2—3 Minuten gebracht, mit destilliertem Wasser abgespült, in einer concentrierten alkoholischen Methylenblaulösung durch mehrmaliges Eintauchen nachgefärbt und mehrmals in Wasser abgespült. Das Blut muss sofort nach der Entnahme untersucht werden, um Verwechslungen von Blutplättchen mit Plasmodien zu vermeiden.

## Andere Mikroorganismen des Bodens.

Neben den hier beschriebenen Mikroorganismen hat man noch eine Anzahl von anderen Mikroorganismen gefunden, die auch im Wasser oder in der Luft vorkommen und dort beschrieben wurden, so den Bacillus ramosus, den Bacillus subtilis, den Staphylococcus pyogenes aureus und den braunen Schimmelpilz.

*Karlinski* fand im Boden auch den Typhusbacillus; doch gehen die Typhusbacillen auf der Oberfläche der Erde bald zugrunde, während sie in den tieferen Bodenschichten sich zu erhalten vermögen.

# Analyse der faulenden Substanzen.

Bei der Untersuchung der Bedingungen zur Zersetzung der organischen Substanzen ist man in der Lage, Mikroorganismen in den Zersetzungsproducten nachzuweisen. Bei der Zersetzung muss man zwischen Fäulnis und Verwesung unterscheiden. Wenn man in der Lebensweise der Mikroorganismen die Bedingungen zur Bildung der Producte sowohl bei der Fäulnis als auch bei der Verwesung sucht, so kann man sehr leicht auch feststellen, dass die Fäulnis durch jene Mikroorganismen veranlasst wird, welche unter Abschluss von Sauerstoff gedeihen; es ist demnach der Fäulnisprocess durch den Lebensprocess der anaëroben Bakterien bedingt, während die Verwesung einen Oxydationsprocess darstellt, der durch aërobe Mikroorganismen erzeugt wird. Bei der Verwesung werden die hoch zusammengesetzten Verbindungen in die allereinfachsten zerlegt, wie dies in der Landwirtschaft beim Düngen geschieht. Dieser Process kann nur unter Sauerstoffzutritt und dem nöthigen Wassergehalt eintreten. Ist der Wassergehalt zu gross, so kann die nothwendige Menge von Sauerstoff nicht zutreten, und es kommt zu einem Fäulnisprocess. Sehr häufig wird bei der Zersetzung die chemische Reaction geändert; es werden auch Ptomaine oder Fäulnisalkaloide gebildet, die eine toxische Wirksamkeit besitzen. Bei den faulenden Substanzen beobachtet man sehr häufig ein Leuchten oder eine Farbenbildung.

## Bacillus fuscus limbatus.

Der Bacillus fuscus limbatus wurde in meinem Institute von *Scheibenzuber* in faulen Eiern gefunden, die deutlich nach Schwefelwasserstoff riechen. Es sind kurze Stäbchen, die sich selten zu Fäden vereinigen. Sie zeigen eine lebhafte Beweglichkeit und verflüssigen die Gelatine nicht. Auf der Gelatineplatte findet man anfangs kleine, bräunliche, deutlich abgerundete Klümpchen, und um sie herum eine durchsichtige circuläre Anordnung der Bacillen, wodurch ein heller, kragenartiger Hof entsteht, der ungefähr 2—3mal breiter ist als der Durchmesser der in der Mitte vorhandenen, ursprünglichen, bräunlichen Insel. In der Stichcultur tritt auf der Oberfläche eine Ausbreitung und längs des Stichcanales sägezahnähnliche, zuweilen ausgebuchtete Auftreibungen auf. Um den Impfstich zeigt sich eine Verfärbung des Nährbodens in Form eines Sackes, dessen Convexität sich nach unten, die zusammengeschnürte Oeffnung nach oben vom

Impfstich befindet. Dadurch ist er besonders charakterisiert. Er erscheint dadurch als ein Mikroorganismus, der ähnlich dem Bacillus fluorescens non liquefaciens und dem Bacillus melochloros seinen Farbstoff dem Nährboden mittheilt. Auf Agar und auf Kartoffeln zeigt sich ein brauner Belag. Sein Gedeihen erfolgt sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei Bruttemperatur.

## Proteus.

Zu den pathogenen Mikroben, die in faulenden Substanzen leben, gehören die von *Hauser* beschriebenen Proteusarten. Man unterscheidet den Proteus vulgaris, Proteus mirabilis und Proteus Zenkeri. Diese Organismen veranlassen die faulige Zersetzung. Wenn man Thiere mit geringen Mengen der Proteusculturen subcutan impft, so werden toxische Erscheinungen hervorgerufen, und es gehen die Thiere (Kaninchen, Meerschweinchen) in verhältnismässig kurzer Zeit unter den Erscheinungen einer schweren Peritonitis oder einer Darmentzündung zu Grunde. Die toxische Wirkung rührt von der Zersetzung der Eiweisskörper her, aus denen giftige Substanzen abgespalten werden.

Der Proteus vulgaris (Bacillus figurans) besteht aus kleinen, gekrümmten, sehr lebhaft beweglichen Stäbchen, die auch in Verbänden auftreten. Zuweilen ändert sich die ursprüngliche Gestalt, so dass Kokken entstehen. Auf der Gelatineplatte entstehen anfangs braune Colonien, die am Rande Büschel von Fortsätzen tragen. Wenn sich diese rankenartig verschlingen, so entsteht eine Figur (schwärmende Insel), die durch ein Klatschpräparat leicht wiedergegeben und durch die Färbung deutlicher gemacht wird. Bei stärkerer Vergrösserung sieht man in einem solchen Klatschpräparate die Elemente und ihre Verbände. Innerhalb der Gelatine findet sich in den verflüssigten Gebieten eine Ablagerung der Bacillen in Verbänden. Die Stichcultur zeigt eine sehr rasche Verflüssigung. Die Mikroorganismen senken sich an den Boden der Cultur. Auf Agar zeigt sich ein Belag und auf Kartoffeln ein schmutziger Rasen. Blutserum wird verflüssigt und fällt ebenso wie Fleischmassen einer raschen Fäulnis anheim.

Nach *Kühn* vermag der Proteus vulgaris auch ein Sauerwerden, nach *Krüger* ein Bitterwerden der Milch zu veranlassen.

Nach *J. Schnitzler* ist der Proteus vulgaris auch im Stande, Harnstoff in kohlensaures Ammoniak umzuwandeln.

Der Proteus Zenkeri verflüssigt die Gelatine nicht und gedeiht auch unter Luftabschluss, seine Colonien lassen sich leicht von der Gelatineplatte abheben.

Der Proteus mirabilis verflüssigt die Gelatine sehr langsam.

Unter den übrigen Proteusarten sind noch der Proteus hominis und der Proteus capsulatus anzuführen.

## Bacillus saprogenes.

In stinkenden Secreten fand *Rosenbach* Bacillen, die bei der Züchtung einen starken Fäulnisgeruch verbreiten; sie verursachen

eine stinkende Fäulnis von Fleisch. *Rosenbach* unterscheidet 3 Arten des Bacillus saprogenes. Die erste Art, die er aus den weissen Pfröpfen der Rachenwand isolierte, erzeugt auf Agar einen gelbgrauen, undurchsichtigen, breiigen Streifen (Bacillus saprogenes I). Die zweite Art, die er im stinkenden Fussschweiss fand, erzeugt auf Agar zahlreiche feine Tröpfchen, die sich ausbreiten und eine wasserhelle Decke bilden (Bacillus saprogenes II). Die dritte Art fand *Rosenbach* in septischem, gangränösem Eiter; auf Agar entwickelt sich ein breiter, fast flüssiger Belag (Bacillus saprogenes III).

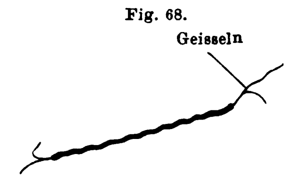
## Spirillum concentricum.

Das Spirillum concentricum wurde von *Kitasato* in faulendem Rinderblute gefunden und zeigt schraubenförmig gewundene, lebhaft bewegliche, mit Geisselfäden ausgestattete Elemente. Auf der Gelatineplatte treten rundliche, scharf begrenzte Scheiben auf, die beim Wachsen eine concentrische, aus durchsichtigen und undurchsichtigen Ringen bestehende Schichtung zeigen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Stichcultur wächst mehr oberflächlich. Auf Agar haftet die Ausbreitung fest; auf Glycerinagar treten die concentrischen Schichten deutlich auf; auf Kartoffeln erfolgt kein Wachsthum.

## Spirillum rubrum.

Das Spirillum rubrum wurde von *v. Esmarch* in einer an Mäuseseptikämie verendeten Maus gefunden. Die Spirillen sind sehr lebhaft beweglich und besitzen nach *Löffler* Geisseln (Fig. 68).

Fig. 68.




*Spirillum rubrum mit Geisselfäden (nach Löffler).*

*v. Esmarch* hat sie zuerst in Gelatinerollculturen gezüchtet; die Colonien sind anfangs grau, später roth. Sie gedeihen ausserordentlich langsam und verflüssigen die Gelatine nicht. Besonders zeigt der Impfstich nach einiger Zeit eine weinrothe Farbe, die aber auf der Oberfläche nicht auftritt. Es scheint daher die Farbenbildung nicht vom Einfluss des Sauerstoffes abhängig zu sein. Die Einwirkung des Lichts übt auf die Farbstoffbildung einen hemmenden Einfluss aus. Auf Agar bildet sich anfangs ein weisser Belag, der später rosaroth wird; auf Kartoffeln treten nur kleine, rothe Inseln auf; in Bouillon gedeihen sie ebenso wie in Condensationswasser von Blutserum. Bei Zimmertemperatur wachsen sie ebenso wie bei Bruttemperatur.

# Bakterien in Nahrungsmitteln.

In ähnlicher Weise wie man die Mikroorganismen im Wasser und in der Erde untersucht, werden auch die Nahrungsmittel mit Hilfe des Plattenverfahrens auf ihren Bakteriengehalt geprüft. Manche Nahrungsmittel sind bakterienhältig, weil sie durch die an ihnen haftenden Bodentheilchen oder durch Luftkeime verunreinigt sind. Wahrscheinlich spielen Insecten, insbesondere Fliegen, bei der Uebertragung der Bakterien auf die Nahrungsmittel eine wichtige Rolle. Manche Nahrungsmittel stellen für einige Bakterien sehr günstige Nährböden dar, so die Milch, das Fleisch und die Fleischbrühe für Typhus- und Cholerabacillen; andere Nahrungsmittel sind durch den Gehalt an Bakterien direct infectiös, wie die Milch und das Fleisch perlsüchtiger Thiere.

Von Pflanzen werden wässerige Aufgüsse bereitet, aus denen Proben zur mikroskopischen Untersuchung genommen werden. Zur Untersuchung von Käse versetzt man eine geringe Menge mit Wasser und verreibt sie. Kleine Proben dieser Masse werden zu Plattenculturen verwendet. Die Milch wird gleich den Flüssigkeiten behandelt. Butter und ähnliche Substanzen werden entsprechend ihrer Consistenz entweder mit oder ohne Flüssigkeit der Untersuchung unterworfen.

Ist man nicht in der Lage, sogleich Plattenculturen anzulegen, so nimmt man mit dem geglühten Platindrahte eine Probe der zu untersuchenden Substanzen und legt eine Stichcultur in Gelatine an, aus der die weitere Untersuchung vorgenommen werden kann. Doch steht dieses Verfahren an Sicherheit weit hinter dem Plattenverfahren zurück, und, wo es nur angeht, soll letzteres in Anwendung gezogen werden.

## Untersuchung der Milch.

Die Milch kann beim Melken oder beim Herrichten verunreinigt werden, Riechstoffe aufnehmen, schleimig oder fadenziehend werden, einen bitteren oder einen sauren Geschmack annehmen; die Farbe kann blau oder roth werden; es können der Milch ferner vom Mutterthiere verschiedene pathogene Mikroorganismen beigegeben sein. Zur Untersuchung der Milch verdünnt man nach *Arens* eine

Oese Milch mit einer Oese destillierten Wassers auf dem Deckglase, trocknet und fixiert durch nicht zu starkes Erhitzen. Das so präparierte Deckglas wird nun in Chloroformmethylenblau gebracht, das durch eine Mischung von 12—15 Tropfen gesättigten alkoholischen Methylenblaus mit 3—4 Ccm. Chloroform bereitet wird; man bewegt nun das Deckglas durch 4—6 Minuten hin und her, lässt das Chloroform verdunsten und spült das anhaftende Methylenblau ab. In frischer Milch und im Rahm sind nur die Bakterien dunkelblau; in geronnener Milch werden auch die Caseinflöckchen gefärbt, erscheinen aber blassblau.

Eine andere Methode der bakteriologischen Untersuchung der Milch besteht darin, dass man einen Tropfen der Milch auf dem Deckgläschen mit zwei bis drei Tropfen einer einprocentigen Natriumcarbonatlösung versetzt, mit der Platinnadel möglichst gut mischt und darauf das Deckgläschen über einer kleinen Flamme vorsichtig bis zur völligen Verdunstung erwärmt; dadurch erzielt man eine Verseifung der Fette, so dass das Deckgläschen mit einer dünnen Schichte Seife überzogen erscheint; das so vorbereitete Präparat kann den gewöhnlichen Färbungsverfahren unterzogen werden.

## Bacillus lacticus (Bacillus acidi lactici).

*Pasteur* wies darauf hin, dass die Ueberführung von Zucker in Milchsäure, die Milchsäuregährung, durch Mikroorganismen veranlasst sei. *Hueppe* studierte die Milchsäuregährung genauer und beschrieb einen Mikroorganismus, dem die Eigenschaft, die Milch zur Gerinnung zu bringen, in ausgezeichnetem Masse eigen ist. Es sind kurze, plumpe, unbewegliche Stäbchen, die zumeist zu zweien auftreten, selten aber zu längeren Ketten vereinigt sind. Das Wachsthum kann auch unter Sauerstoffabschluss erfolgen. Auf der Gelatineplatte treten kleine weisse, porzellanartig glänzende Pünktchen auf, die den Nährboden nicht verflüssigen; unter dem Mikroskope zeigen sie in der Mitte eine gelbliche Färbung, die gegen den Rand hin durchsichtiger und blasser wird. In der Stichcultur zeigt sich anfangs ein Wachsen längs des Impfstiches; bald tritt auf der Oberfläche ein grösserer Belag auf, und es scheiden sich Salzkrystalle aus dem Nährboden aus. Auf Agar entwickelt sich ein weisslicher Belag und auf Kartoffeln ein brauner, dicker, schmieriger Ueberzug.

Wenn man zur Milch eine geringe Menge einer Reincultur des Bacillus lacticus zusetzt, so entsteht eine Säurebildung mit einer Gerinnung des Caseins; der Milchzucker wird in Kohlensäure und Milchsäure gespalten. Die Wirkung auf die Milch scheint nur bei Luftzutritt vor sich gehen zu können, wenn auch das Gedeihen des Mikroorganismus von der Luft nicht ahhängig ist.

## Micrococcus acidi lactici.

Der von *Marpmann* beschriebene Micrococcus acidi lactici steht in der Wirkung dem Bacillus lacticus nahe; es sind unbewegliche Kokken, die einzeln oder zu zweien auftreten. Nach

24 Stunden erscheinen auf der Gelatineplatte gelblich weisse, punktförmige Colonien; in der Stichcultur entwickelt sich ein oberflächlicher Belag, der in der Mitte dicker ist als am Rande; sein Wachsthum ist ziemlich langsam. Nach 12 Stunden tritt eine Röthung der Milch, nach 24 Stunden eine Coagulation und eine Milchsäuregährung auf.

*Marpmann* hat in der Milch auch den Sphaerococcus acidi lactici gefunden, der ähnliche Eigenschaften wie der Micrococcus acidi lactici besitzt.

## Clostridium butyricum (Bacillus amylobacter).

In alter Milch findet sich häufig das auch sonst in der Natur sehr verbreitete Clostridium butyricum, das von *Prazmovsky* genau studiert wurde. Man trifft es auch sehr häufig im Käse, dann in faulenden Pflanzenaufgüssen und nach *Nothnagel* sehr häufig in den Faeces. Die Stäbchen sind lebhaft beweglich und streng anaërob. Auf Gelatine und Agar entwickeln sich Gase, die nach Buttersäure riechen. Mit wässeriger Jodlösung färben sich die Stäbchen blau bis dunkelviolett; man schliesst daraus, dass das Protoplasma Granulose enthalten müsse, daher der Name Bacillus amylobacter. Aus Stärke, Dextrin und milchsaurem Salze bildet sich Buttersäure unter gleichzeitiger Entwicklung von Wasserstoff und Kohlensäure. Caseinmassen und andere geronnene Eiweisskörper werden verflüssigt.

## Micrococcus acidi lactici liquefaciens.

*Krüger* hat in käsiger Butter und Käse den Micrococcus acidi lactici liquefaciens gefunden; er besteht aus kleinen, ovalen, unbeweglichen, oft zu vieren angeordneten Kokken und bildet auf der Gelatineplatte kleine, die Gelatine rasch verflüssigende Colonien; in der Stichcultur bildet sich an der Oberfläche des Verflüssigungstrichters eine weisse Haut, die später zu Boden sinkt. Die Milch gerinnt bei 25°—35° C. unter Bildung von Milchsäure und Abscheidung einer klaren Serumschicht an der Oberfläche. Nach längerer Zeit verbreitet die Milch einen kleisterartigen Geruch. Der Mikroorganismus gedeiht auch bei Luftabschluss.

Das Sauerwerden und das Bitterwerden der Milch kann nach *Kühn* auch durch den Proteus vulgaris veranlasst werden, der ein Eindicken der Milch erzeugt.

## Oidium lactis.

In sauer gewordener Milch und regelmässig in Butter findet sich das von *Grawitz* genauer beschriebene Oidium lactis, das als Schimmelpilz einen weissen Rasen bildet; die Fäden des Mycels steigen auf, gliedern sich und tragen Reihen von cylindrischen Gonidien. Das Oidium wächst auf der Gelatine, ohne sie zu verflüssigen. Auf der Oberfläche der Platte bildet sich bei 20° C. ein weisser, langhaariger Rasen und verbreitet einen Geruch nach saurer

Milch. Die Stichcultur zeigt sich von Fäden durchzogen. Sauer reagierende Gelatine wird verflüssigt. Auf Agar entwickeln sich bei 30° C. weissliche Sterne, die mit einander zusammenfliessen und die Oberfläche bedecken. Das Wachsthum erfolgt auch auf Blutserum; auf Milch entsteht eine dicke Pilzhaut (siehe Fig. 5).

## Bacillus butyricus.

Die Buttersäuregährung wird nach *Hueppe* durch den Bacillus butyricus veranlasst; er besteht aus kurzen, gekrümmten Stäbchen, die eine lebhafte Eigenbewegung besitzen. Sie sind im Stande, eine Coagulation der Milch zu veranlassen und die Buttersäuregährung einzuleiten. Das geronnene Casein wird gelöst und in Pepton übergeführt bei gleichzeitiger Abspaltung von Ammoniak und anderen Spaltungsproducten. Zugleich nimmt die Milch einen bitteren Geschmack an. Die Gelatine wird sehr rasch verflüssigt. Auf der Platte erscheinen gelbliche Colonien; in der Stichcultur entwickelt sich eine graulichweisse Haut und eine gelbe Verfärbung der verflüssigten Gelatine. Auf Agar entsteht ein gelber Belag, auf Kartoffeln ein faltiger, schmutziger Ueberzug. Bei Bruttemperatur werden mittelständige Sporen gebildet.

Nach *Botkin* findet sich in jeder Milch ein echter Bacillus butyricus, der eine rasche Gerinnung der Milch mit sehr reichlicher Gasbildung durch das Ausscheiden von freier Buttersäure veranlasst. Um ihn zu isolieren, wird die Milch durch $^1/_2$ Stunde im Dampfkochtopfe sterilisiert und luftdicht verschlossen in den Brutschrank gestellt. Nach 2 Wochen ist die Milch vollständig zersetzt; es wird nun aus ihr eine Anaërobenplatte gegossen, wozu man nach *Botkin* am besten eine Glocke benützt, in die man bei Anwesenheit von Pyrogallol und Verschluss durch Paraffin Wasserstoff einleitet. *Botkin* empfiehlt als Nährboden Zuckeragar. Nach zweitägigem Aufenthalt im Brutschranke sind die Colonien so weit ausgewachsen, dass man sie leicht als Reincultur in hohe Agarschichten einpflanzen kann. Es entstehen runde Colonien, die den Eindruck eines aus eng verflochtenen Fäden bestehenden Filzes machen und mit einer bedeutenden Anzahl von nach allen Seiten ausstrahlenden Ausläufern versehen sind. Die Gelatine wird sehr rasch verflüssigt. Auf Kartoffeln entwickelt sich in der Tiefe von 1 Mm. eine reichliche Wucherung von Bacillen, welche die Kartoffelsubstanz auffallend lockern und einen eigenthümlichen Geruch nach Alkohol verbreiten.

## Bacillus butyri viscosus.

*Lafar* fand in der Butter regelmässig Kurzstäbchen mit abgerundeten Ecken, die nicht selten Kettenformen bilden. Die Stichcultur in Gelatine verbreitet sich auf der Oberfläche nur wenig; längs des Impfstiches treten aber fischlaichartige, klumpige, oft traubige Gebilde auf, welche die Gelatine nicht verflüssigen. Auf der Gelatineplatte entstehen an der Oberfläche kleine weisse Pünktchen, die bedeutend stärker in die Höhe als in die Breite wachsen und allmälig zu einem linsenförmigen Scheibchen zerfliessen und die ganze

festbleibende Gelatine mit einem schleimigen Belag von etwa einem halben Millimeter Dicke bedecken. Auf Agar entsteht ein weisser, schleimiger Ueberzug. Auf Kartoffeln entwickelt sich ein feiner, feuchter, glänzender Belag, ähnlich wie bei Typhusbacillen. Das Wachsthum erfolgt auch bei Luftabschluss.

Der von *Lafar* aus der Butter isolierte Bacillus butyri fluorescens scheint identisch zu sein mit dem von *F. Winkler* und *v. Schrötter* in meinem Institute aus der Luft isolierten Bacillus melochloros (siehe pag. 84).

## Spirillum tyrogenum.

*Deneke* züchtete aus altem Käse eine Kommabacillenart (Spirillum tyrogenum), deren Elemente stark gekrümmt und rasch beweglich sind. Auf der Gelatineplatte entstehen kleine, punktförmige Colonien, welche die Gelatine verflüssigen und sich gelb färben; anfangs sind sie einer Choleracultur ähnlich. Sie unterscheidet sich vom Choleravibrio durch eine raschere Verflüssigung der Gelatine und durch die gelbliche Färbung der Colonien. Die Verflüssigung erfolgt aber langsamer als beim Vibrio Proteus. In der Stichcultur wird die Gelatine längs des ganzen Impfstiches verflüssigt; die Bakterien senken sich nach einigen Tagen in die Tiefe und liegen hier als aufgedrehte Knäuel. Die Luftblase ist grösser als in den Choleraculturen (siehe Fig. 52). Auf Agar zeigt sich ein dünner, gelblicher Ueberzug; auf Kartoffeln bildet sich ein gelblicher Rasen; Blutserum und Kibitzeiweiss werden verflüssigt. Durch Injection von Culturen in den Darmtract von Meerschweinchen unter den von *Koch* für die Injection der Cholerabakterien angegebenen Vorsichtsmassregeln werden die Thiere getödtet.

## Bacillus lactis viscosus.

Dieser sehr verbreitete Milchschädling wurde von *Adametz* zuerst im Wasser von Bächen in der Umgebung Wiens gefunden. Er bildet kurze Stäbchen, die Kokken ähnlich sind, mit einer dickeren, lichtbrechenden Kapsel. Auf der Gelatineplatte entstehen runde, scheibenförmige Colonien, zuweilen mit concentrischen Ringen; bei günstiger Temperatur (16°—20°) entsteht an ihnen ein breiter, unregelmässig gezackter, hornartig durchscheinender Saum. Stichculturen auf Agar geben schmale, weissliche Streifen, deren Rand anfangs glatt, später feingezackt ist. Sterilisierte Milch wird nach 4—6 Wochen zähflüssig wie Honig und lässt sich zu langen Fäden ausziehen (schleimige Gährung). In nicht sterilisierter Milch wird nur der Rahm fadenziehend oder schleimig. Dieser Rahm liefert eine weiche, schmierige Butter, die durch das massenhafte Auftreten von Buttersäurebacillen rasch dem Verderben unterliegt. *Adametz* glaubt daher, dass dieser Bacillus den Buttersäurebacillen den Boden bereite. Die fadenziehende Substanz stammt von der Hüllsubstanz der Bacillen her und ist wahrscheinlich ebenso wie beim Bacillus mesentericus vulgatus metamorphosierte Cellulose. Auch der

Bacillus mesentericus vulgatus vermag eine schleimige Gährung zu veranlassen.

Nach *Löffler* wird die schleimige Gährung auch durch den Bacillus lactis pituitosi veranlasst, der aus dicken, gebogenen Stäbchen besteht, die sehr rasch in kokkenähnliche Segmente zerfallen. Die Colonien auf der Gelatineplatte sind radiär gestreift, die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Kartoffeln entwickelt sich ein grau-weisser Ueberzug.

## Bacillus actinobacter.

*Duclaux* fand in der Milch sehr häufig feine, unbewegliche Stäbchen, theils isoliert, theils zu zweien geordnet, immer mit Gallertkapseln versehen. Die Milch wird dadurch gallertig und zähklebrig. Bei der künstlichen Züchtung in Glycerinlösungen bleiben die Kapseln erhalten, während sie bei der Züchtung in Bouillon und in Zuckerlösungen verloren gehen. Die Entwicklung kann auch bei Sauerstoffabschluss erfolgen.

## Bacillus foetidus lactis.

*Jensen* isolierte aus der Milch einen Bacillus, welcher der Milch und ihren Producten einen ekelhaften, süsslich faulen Geruch und Geschmack verleiht. Der Bacillus zeigt kurze, dicke Stäbchen mit abgerundeten Ecken und lebhafter Eigenbewegung. Die Gelatine wird nicht verflüssigt; es entwickeln sich auf der Platte oberflächliche, perlmutterglänzende Colonien. In der Stichcultur zeigt sich ein schleimiges Oberflächenwachsthum und eine reichliche Entwicklung längs des Stichcanales. Auf Agar bilden sich grosse, linsenförmige Gasblasen.

## Bacillus cyanogenus.

Die Ursache des Blauwerdens der Milch wird im Bacillus cyanogenus gesucht, der von *Ehrenberg* als Bacillus syncyanus bezeichnet und von *Hueppe* und von *Neelsen* studiert wurde. Der Bacillus der blauen Milch besteht aus kleinen, lebhaft beweglichen, mit zahlreichen Geisseln versehenen Stäbchen, die die Gelatine nicht verflüssigen. Auf der Platte entstehen oberflächliche, runde Colonien, die eine Dunkelfärbung der umgebenden Gelatine bewirken. Die Stichcultur wächst in Form der Nagelcultur, deren Köpfchen aus einer weissen, dicken Auflagerung besteht. Die Gelatine wird graulichblau gefärbt und nimmt endlich einen dunklen Ton an. Auf Agar bildet sich ein oberflächlicher Rasen und eine Verfärbung des Nährbodens. Auf Kartoffeln zeigt sich anfangs ein dicker, gelber, schmieriger Belag um den Impfstich und in älteren Culturen eine Blaufärbung des Nährbodens. Der Bacillus pflanzt sich durch Bildung von endständigen Sporen fort. Der blaue Farbstoff wird durch Alkalien lebhaft roth, durch Säuren wieder blau. Seine Muttersubstanz ist nach *Gessard* die Milchsäure.

## Bacterium lactis erythrogenes.

*Hueppe* und *Grotenfeldt* fanden in der rothen Milch und auch in den Fäces von Kindern das Bacterium lactis erythrogenes; es sind kurze, oscillierende Stäbchen, deren Wachsthum die Gelatine verflüssigt. Auf der Platte zeigen sich die Colonien anfangs gelblich, nach der Verflüssigung rosenroth. In der Stichcultur zeigt sich eine weissliche, später gelbliche Auflagerung, die sich dann rosaroth verfärbt. Hat die Verflüssigung nach 10—12 Tagen stattgefunden, so ist die Flüssigkeit rosafarbig, und die Färbung reicht auch in die noch feste Gelatine hinein. Auf Agar tritt ein gelblicher Belag auf, der bald in's Gelbrothe übergeht. Auf der Kartoffeloberfläche zeigt sich bei Bruttemperatur nach 6—8 Tagen eine goldgelbe Farbe; bei gewöhnlicher Zimmertemperatur sind die Colonien gelbroth. In allen Culturen entsteht ein widerwärtig süsser Geruch.

Setzt man eine geringe Menge einer Reincultur zu einer neutral oder schwach alkalisch reagierenden Milch hinzu, so wird das Casein ausgeschieden und peptonisiert. Die Rahmschicht an der Oberfläche und der Caseinniederschlag in der Tiefe sind weiss, zwischen beiden liegt das rosa gefärbte Serum. Die Farbstoffbildung geht sowohl bei Tageslicht als auch im Dunkeln vor sich. Sie scheint nach *Hueppe* ein Ausfluss des Stoffwechsels, also ein Farbptomain, und von anderen Einflüssen und Bedingungen unabhängig zu sein.

Die Rothfärbung der Milch kann auch durch den Bacillus prodigiosus veranlasst werden. Der Prodigiosus erzeugt nur eine sehr langsame Ausscheidung des Caseins und keine weitere Umsetzung.

## Sarcina rosea.

Nach *Menge* kann die Rothfärbung auch durch eine Sarcine veranlasst sein, der er den Namen Sarcina rosea gibt, die aber mit dem von *Schröter* beschriebenen gleichnamigen Mikroorganismus (siehe pag. 78) nicht identisch zu sein scheint. Auf der Gelatineplatte bilden sich nach 2 Tagen kleine, durchscheinende, vollkommen runde Colonien, welche bald das Bild einer Rosette darbieten, die in der Mitte ein rothes, von concentrischen Ringen umgebenes Köpfchen trägt. In der Stichcultur bedeckt sich die Oberfläche mit einem dünnen, rosarothen, am Rande gekerbten Belage, während der Impfstich farblos bleibt. Die Verflüssigung tritt sehr spät auf. Auf Agar entwickelt sich eine zusammenhängende, zunächst weisse Wucherung, die am dritten Tage Farbe annimmt; im Wärmeschrank bleibt aber die Farbenproduction vollständig aus. Auf alkalisierten Kartoffeln gedeiht die Sarcine vortrefflich. Die Bildung des Farbstoffes in der Milch ist vom Lichte unabhängig.

## Micrococcus der Mastitis der Kühe.

Bei verschiedenen Erkrankungen der Milchdrüsen der Thiere, welche durch Mikroorganismen bedingt sind, kann man letztere auch

in der Milch vorfinden. So findet man den von *Kitt* beschriebenen Micrococcus der Mastitis der Kühe, welcher in dem milchig eiterigen Inhalt der Euter von mastitiskranken Kühen vorkommt. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich kleine punktförmige, stecknadelkopfgrosse Colonien; der Stich in die Gelatine erzeugt eine Nagelcultur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Kartoffeln zeigt sich eine wachsähnliche Auflagerung.

## Andere pathogene Milchbakterien.

In der Milch perlsüchtiger Thiere findet man Tuberkelbacillen, nach *Bollinger* schon zu einer Zeit, da die Euter noch nicht tuberculös erkrankt sind. Durch das Wasser können auch Typhusbacillen in die Milch gebracht werden und sich hier reichlich entwickeln. Die Cholerabakterien vermögen sich ebenfalls in der Milch reichlich zu vermehren, ohne sich merklich zu verändern, doch gehen sie beim Auftreten einer Milchsäuregährung zu Grunde. In der Milch einer an Euterentzündung erkrankten Kuh wurde von *Krüger* der Staphylococcus pyogenes aureus gefunden.

## Saccharomyces ruber.

In der Milch und im Käse kommt nach *Demme* ein Sprosspilz vor, der im Käse rothe, punktförmige Farbstoffherde und in der Milch einen rothen Bodensatz erzeugt. *Demme* bezeichnet ihn als Saccharomyces ruber; die Gelatine wird durch ihn nicht verflüssigt; auf der Platte entwickeln sich hirsekorngrosse Colonien, die erst nach einer Woche eine rothe Farbe zeigen; in der Stichcultur ist das Wachsthum meist oberflächlich. Kartoffelscheiben sind nach 8—12 Tagen mit einem himbeerrothen Rasen bedeckt.

## Bacillus caucasicus (Dispora caucasica, Kefirbacillus).

Mit dem Namen Kefirkörner bezeichnet man Zoogloeamassen von Mikroorganismen, die in den Kaukasusländern zur Bereitung des Kefirs aus der Milch benützt werden. Bei der Bereitung des Kefirs aus der Milch geht das Casein in Lösung, während der Milchzucker im Sinne einer Milchsäure- und alkoholischen Gährung beeinflusst wird *(Adametz)*. Sie enthalten Hefe und Bakterien, welche Casein zu peptonisieren vermögen, den Bacillus acidi lactici, Bacillus butyricus, Bacillus subtilis und neben diesen einen Mikroorganismus, dem *Kern* die Hauptrolle zuschreibt, und der den Namen Bacillus caucasicus trägt. Es sind dies kurze, cylindrische Stäbchen, die in der Zoogloea unbeweglich, isoliert aber ausserordentlich lebhaft beweglich sind. Der Name Dispora wurde deshalb dem Mikroorganismus gegeben, weil sich das Protoplasma an beiden Enden zurückzieht und so das Bild hervorruft, als würde sich das Stäbchen in zwei Sporen theilen. Durch seine Lebensthätigkeit verwandelt sich der Milchzucker in Glycose. Dann kann erst die Hefe zur Wirkung kommen.

# Untersuchung anderer Nahrungsmittel.

## Bacillus megaterium.

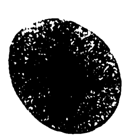
*De Bary* fand auf gekochten Kohlblättern den B a c i l l u s m e g a t e r i u m. Es sind lange, dicke, etwas gekrümmte Stäbchen mit abgerundeten Ecken, häufig zu Ketten verbunden. Der Zellinhalt ist leicht granuliert. Die Bewegung der Stäbchen erinnert an die amöboide Bewegung des Zellprotoplasmas. Bei der Involution verliert die Stäbchenform an Deutlichkeit, und es entstehen Missgestalten, die aber durch Uebertragung auf frische Nährsubstanzen wieder ihre normale Gestalt erhalten. Seine Sporenbildung eignet sich ganz besonders zum Studium; die Sporen färben sich auch leicht (Fig. 69). Auf der G e l a t i n e p l a t t e bilden sich kleine, rundliche, aus welligen Fäden bestehende Colonien, die den Nährboden langsam

Fig. 69.

Kette mit sporenhaltigen Gliedern

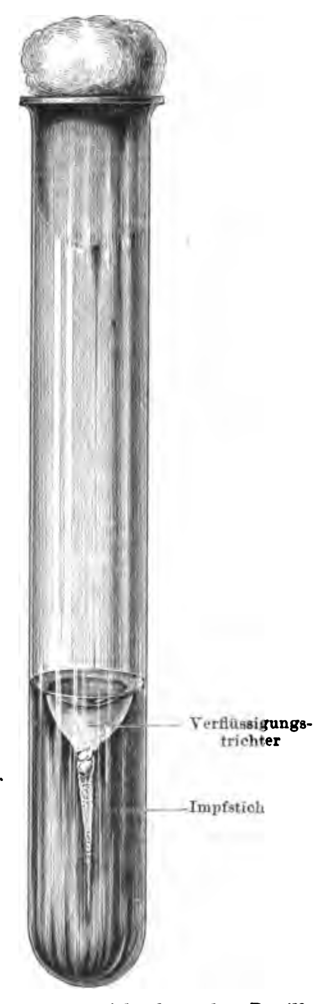
*Bacillus megaterium mit Sporen.*

Fig. 70.



*Insel des Bacillus megaterium auf der Gelatineplatte.*

Fig. 71.




*Gelatinestichcultur des Bacillus megaterium.*

verflüssigen und eine nieren- oder halbmondförmige Gestalt besitzen (Fig. 70). In der Stichcultur zeigt sich eine trichterförmige Verflüssigung, in der sich die Bakterien zu Boden senken (Fig. 71). Auf A g a r entwickeln sich graue Auflagerungen, die der Masse fest anhaften. Auf K a r t o f f e l n bildet sich ein schmieriger, weissgrauer Belag, der viele Involutionsformen enthält.

Auf Pflanzen kommen ausserdem der Bacillus prodigiosus, Bacillus subtilis, Bacillus amylobacter und Bacillus butyricus vor. Im faulenden Theile von Aepfeln fanden *F. Winkler* und *v. Schrötter* den Staphylococcus pyogenes aureus. Im Raupenkoth der wurmigen Aepfel fanden sie den Bacillus melochloros.

## Bacillus aceti.

*Pasteur* hat bereits 1864 den Nachweis geliefert, dass die Oxydation des Alkohols und die Ueberführung desselben in Essigsäure an das Essigferment gebunden sei, das sich nur bei Gegenwart von Sauerstoff entwickeln könne. Dieses Ferment wird von kurzen, dicken Stäbchen gebildet, welche sich oft zu gekrümmten Ketten verbinden. Die Zoogloeamasse (Essigmutter) ist dick und klebrig.

*Macé* fand ein anderes Essigbakterium, dessen Zoogloeamasse dick, weiss oder leicht rosafarbig, niemals gefaltet ist und sich fast knorpelig anfühlt. In einer ungefärbten Grundsubstanz liegen zahlreiche Stäbchen, bald isoliert, bald zu 2—3 mit einander vereinigt. Im Häutchen sind die Stäbchen unbeweglich, in freien Flüssigkeiten haben sie eine langsame Bewegung. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Oberfläche der Gelatine entwickelt sich ein dicker, welliger, ziemlich harter Belag. Auf Agar entsteht ein weniger harter, aber glatter, nicht gewellter Ueberzug.

Nach *Duclaux* sind die Essigbakterien in der Natur sehr verbreitet; er schreibt bei der Uebertragung des Fermentes eine grosse Rolle einer überall vorkommenden Fliegenart, der Musca cellaris, zu.

## Bacillus indigogenus.

*Alvarez* fand in dem Macerationsaufguss von Indigoblättern einen Bacillus indigogenus, der aus kurzen, mit einer Hülle umgebenen, beweglichen Stäbchen besteht. Er hat die Eigenschaft, in Abkochungen von Blättern der Indigofera das Auftreten von blauem Indigo zu bewirken. Auf Agar entsteht durch die Strichcultur eine Zerklüftung des Nährbodens unter Gasentwicklung.

## Pediococcus cerevisiae.

Im Biere, in Brauereilocalitäten und im Spülwasser von Brauereien wurde von *Balcke* der Pediococcus cerevisiae gefunden, der Diplokokken und Tetrakokken bildet und auf der Gelatineplatte Colonien zeigt, die anfangs farblos, später bräunlich sind und die Gelatine nicht verflüssigen. In der Stichcultur entwickelt sich ein weisser, blattartiger Belag. Auf Agar entsteht ein irisierender, grauweisser Ueberzug; auf Kartoffeln ist das Wachsthum spärlich. Sein Gedeihen geht mit der Bildung von etwas Milchsäure einher.

## Sarcina cerevisiae.

Im Biere finden sich eine Anzahl von Sarcinen, die zum Theil aus der Luft stammen. *Lintner* traf in sauer gewordenen Bieren eine

Sarcinenart, die nach *Adametz* auch im Wasser vorkommt und eine Milchsäuregährung veranlasst. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Inseln auf der Gelatineplatte sind rund, farblos und glatt gerandet. Allmälig entwickelt sich ein zarter, fluorescierender Ueberzug über der Gelatine. In der Stichcultur entwickelt sich ein weisser, glatter Belag. Auf Kartoffeln entstehen helle, körnige Inseln.

### Micrococcus viscosus.

Eine eigenthümliche Erkrankung des Weins und des Biers, die von den Franzosen la graisse genannt wird und in einer Trübung und Eindickung der Flüssigkeit besteht, so dass sie fadenziehend wie Hühnereiweiss wird, beruht nach *Pasteur* auf der Lebensthätigkeit des Micrococcus viscosus. Die Zellen finden sich einzeln, meist zu Diplokokken oder Streptokokken geordnet. Die künstliche Züchtung erfolgt am besten in Zuckerlösungen.

### Bacillus viscosus cerevisiae.

In den fadenziehenden Bieren fand *van Laer* regelmässig schlanke Stäbchen, die keine Neigung zu Verbänden haben. Die Gelatine wird verflüssigt. Auf der Platte entwickeln sich runde oder ovale Colonien mit unregelmässigen Rändern, die an der Oberfläche etwas vorragen. In der Stichcultur beobachtet man eine weisse, unregelmässig begrenzte Auflagerung; auch der Stichcanal zeigt eine reichliche Entwicklung von Colonien. Auf Agar ist die Entwicklung sehr rasch; es bildet sich ein breiter, weisser, schleimiger Belag. Diese Bakterien kommen auch in der Milch vor und machen dieselbe schleimig. Auf Kartoffeln entwickeln sich weisse, warzige, sehr klebrige Colonien, welche nach faulen Fischen riechen.

### Bacillus viscosus sacchari.

*Kramer* schreibt das Schleimigwerden von Zuckerlösungen ziemlich langen Stäbchen mit abgerundeten Ecken zu, ohne Eigenbewegung, häufig zu Ketten geordnet. Die Gelatine wird verflüssigt. Auf Agar entwickelt sich ein weisslicher Ueberzug. Auf Kartoffeln entsteht eine feste Masse. Auf sauren Nährböden erfolgt kein Wachsthum.

### Schimmelpilze auf den Nahrungsmitteln.

Die Schimmelpilze finden auf den Pflanzennahrungsmitteln reichliche Gelegenheit zur Entwicklung und zur Fortpflanzung. Es gehören hierher die drei Arten Penicillium, Aspergillus und Mucor. Das Penicillium glaucum fand bereits seine Beschreibung bei der bakteriologischen Analyse der Luft (siehe pag. 73).

Die Aspergillusarten gedeihen auf Brot und Zuckerfrüchten. Um den Aspergillus niger zu erhalten, wird in einem *Erlenmeyer*'schen Kölbchen ein Brotbrei bereitet; nach einiger Zeit findet man mächtige Fruchthyphen, die nicht wie bei Penicillium am Ende verästelt sind, sondern kolbenartig anschwellen; an dieser An-

schwellung ordnen sich die Sterigmen (Zwischenfruchtträger), an deren oberem Ende sich die Sporen abschnüren und Anhäufungen bilden, welche schwarz aufgetriebene, rundliche Anschwellungen darstellen; bald ist das ganze Kölbchen mit Fäden und grauen Punkten erfüllt. Aehnlich sind der Aspergillus albus und Aspergillus glaucus, welche besser bei Bruttemperatur gedeihen (siehe Fig. 3).

Der Aspergillus flavescens zeichnet sich durch starke Fruchtköpfe und die grünliche Farbe seiner Cultur aus; der Aspergillus fumigatus trägt sehr feine Fruchtköpfe und bildet einen aschgrauen Rasen. Beide gedeihen auf Brot bei Bruttemperatur in üppiger Weise. Auf der Gelatineplatte erscheinen Fäden, die sich rasch im Umfange ausbreiten. Die Gelatine wird verflüssigt.

Von den Mucorineen finden sich auf Nahrungsmitteln, besonders auf Brot, der Mucor mucedo, der Mucor corymbifer und der Mucor rhizopodiformis. Sie besitzen ein verzweigtes Mycel, dessen Fruchtträger schlauchförmig und ungegliedert sind und senkrecht aus dem Mycel aufsteigen; an ihren obersten Enden befinden sich Anschwellungen, die Sporangien; durch das Platzen derselben werden die Sporen frei. Neben diesem Vorgange findet auch noch eine Copulation statt, wobei zwei Zellen (Zygosporen), die vom Mycel gebildet werden, mit einander verschmelzen und Sporen geben. Der Mucor mucedo ist einer der gemeinsten Schimmelpilze. Er findet sich häufig in thierischen Excrementen, besonders im Pferdemist; er gedeiht auf saurem Nährboden und ist nicht pathogen (siehe Fig. 2).

Auf der Gelatineplatte entstehen dichte Rasen mit schwarzen, mohnkopfgrossen Fruchtköpfchen.

Der Mucor rhizopodiformis wurde von *Lichtheim* beschrieben; er gedeiht auf Brotgelatine sehr üppig und verflüssigt sie. Der Rasen ist weiss und trägt schwarze Fruchtköpfchen; die Brotcultur ist durch die Entwicklung eines aromatischen Geruches ausgezeichnet.

Der Mucor corymbifer wurde ebenfalls von *Lichtheim* beschrieben; er bildet auf Brot dichte, schneeweisse Rasen, die wie gezupfte Watte aussehen.

Der von *Lindt* beschriebene Mucor ramosus wächst sehr gut auf Brotinfusagar und auf Kartoffeln; sein Rasen ist anfangs weiss, nimmt aber bald eine graubraune Farbe an.

Sowohl der Mucor rhizopodiformis als auch der Mucor corymbifer sind pathogen; eine intravenöse Injection einer Sporenaufschwemmung ruft bei Kaninchen eine tödtliche Erkrankung hervor, bei der die Organe immer in folgender Reihe befallen werden: Nieren, Darm, Mesenterialdrüsen, Milz. Am raschesten wirkt der Mucor ramosus; durch die Injection wird eine acute hämorrhagische Erkrankung erzeugt.

Der Aspergillus fumigatus und Aspergillus flavescens zeigen ebenfalls pathogene Eigenschaften. Nach intravenöser Injection tritt nach *Lichtheim* bei Kaninchen und Hunden eine eigenthümliche Gleichgewichtsstörung auf; die Thiere sterben nach 24 Stunden; die Auskeimungen finden sich besonders im Herzmuskel und in den Nieren.

---

# Bakteriologische Untersuchung des Eiters.

Der Eiter zeigt eine alkalische Reaction und besitzt ein hohes specifisches Gewicht; dadurch ist er — sei es, dass er von Exsudaten oder von Wundflächen stamme oder durch eine andere Entzündung der Gewebe veranlasst sei — ein vorzüglicher Nährboden für die verschiedensten Mikroorganismen.

Der Eiter kann auch gefärbt sein; die Farbe ist grünlich oder braunroth und verbreitet einen eigenthümlichen Geruch. Man findet im Eiter weisse und rothe Blutkörperchen, Blutpigment und Hämatoidinkrystalle, Epithelzellen, Fetttröpfchen, Pilze, Mikrokokken und Bacillen.

Die Eiterung kann auch dadurch angeregt werden, dass man gewisse im Eiter enthaltene Mikroorganismen mit den Geweben in Berührung bringt; durch ihre Lebensthätigkeit sind sie dann die Erreger der Eiterung. Zu diesen gehören besonders der Staphylococcus pyogenes, der, wie wir schon bei der bakteriologischen Analyse der Luft (siehe pag. 78) angeführt haben, in der Natur sehr weit verbreitet ist. Im Eiter fand *Rosenbach* auch den Bacillus saprogenes III (siehe pag. 124).

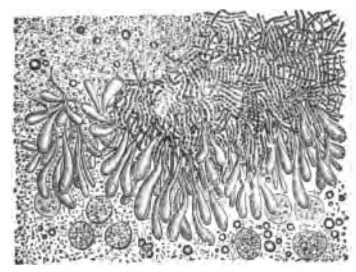
## Actinomyces.

Bei chronischen Entzündungen mit Eiterbildung traf man in letzterer Zeit nahezu in sämmtlichen Organen einen Pilz, den man Actinomyces (Strahlenpilz) nennt; er wurde schon von *Langenbeck* 1845 entdeckt, aber erst von *Israel* 1878 genauer beschrieben; die Erkrankung wird als Actinomykose bezeichnet. Nach *E. Ullmann* ist die Eiterung bei der Actinomykose aber durch die specifischen Eitererreger (Staphylokokken und Streptokokken) veranlasst. Der Actinomycespilz ist nach *Ullmann* nur ein zufälliger Befund im Eiter.

Die Actinomycespilze bilden mohnkorngrosse, schwefelgelbe Kügelchen, die unter dem Mikroskope schon bei sehr schwacher Vergrösserung und leisem Drucke des Deckgläschens dichtgedrängte, traubenförmig gelagerte Kügelchen zeigen. Sie wurden zuerst beim Rinde von *Bollinger* entdeckt und lassen sich sehr leicht auf den Menschen übertragen. Sie bestehen bei stärkerer Vergrösserung aus

hyphenähnlichen Fäden, welche zumeist in radiärer Richtung von einem Mittelpunkte ausstrahlen (Actinomycesdrusen). Die Ausstrahlungen sind nach der Peripherie hin keulenförmig verdickt und stellen verlängerte Anschwellungen dar. *R. Paltauf* bezeichnet den Actinomycespilz als einen Spaltpilz und hält die keulenförmigen Auftreibungen für Degenerationsformen. *Israel* und *Wolff* rechnen ihn unter die polymorphen Spaltpilze, da man neben den strahligen Formen auch fädige Bildungen und Kugelhaufen sieht. *Petroff* und *Flormann* fanden, dass in den Fäden Körnchen mit kleinen, rundlichen Lücken abwechseln. Nach *Rabe* hat eine Alge, die Cladothrix canis, eine sehr grosse Aehnlichkeit mit dem Actinomyces. Der Actinomyces nimmt Anilinfarbstoffe bei längerer Einwirkung auf und gibt sie bei Anwendung der *Gram*'schen Methode nicht ab. Die einfachste Methode, ihn im Eiter nachzuweisen, besteht darin, dass man die kleinen, gelblichen Kügelchen ungefärbt untersucht (Fig. 72 und 73).

Fig. 72.



*Actinomyceskörnchen (ungefärbtes Präparat, nach Jaksch).*

Fig. 73.



*Actinomyces, nach Gram gefärbt, (nach Jaksch).*

Nach *Protopopoff* und *Hammer* stellt die Cultur auf Glycerinagar eine Masse von miliaren, höchstens hanfkorngrossen, dicht bei einander stehenden Knötchen dar, welche eine gelbliche Farbe haben und sehr fest am Nährboden haften. Aehnlich ist das Wachsthum auf Kartoffeln, nur dass die Cultur ganz trocken aussieht. In Bouillon entwickeln sich in kurzer Zeit miliare Knötchen, die bis zu Haselnussgrösse anwachsen können. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Auch bei Abschluss des Sauerstoffes gedeiht er in Eiern nach der *Hueppe*'schen Methode.

*F. Winkler* hat in meinem Institute den Actinomyces auf Kibitzeiweiss gezüchtet; es bilden sich mohnkorngrosse, schwefelgelbe Colonien über der ganzen Oberfläche des Nährbodens, der aber nicht verflüssigt wird.

## Bacillus pyocyaneus.

Der Bacillus pyocyaneus verursacht das Grau- oder Blauwerden des Eiters und der mit Eiter getränkten Verbandstücke.

Der von *Gessard* beschriebene Bacillus pyocyaneus $\alpha$ besteht aus kleinen, schlanken Stäbchen mit einer Geissel und lebhafter Eigenbewegung. Auf der Gelatineplatte zeigen sich in der Tiefe

rundliche, gelbgefärbte Inseln, die nach etwa zwei Tagen der ganzen Gelatine einen grünlichen Farbenton verleihen und die Gelatine langsam verflüssigen. Bei der Stichcultur zeigt sich die Verflüssigung längs des Impfstiches und eine grünliche Verfärbung der verflüssigten Massen; auch der nicht verflüssigte Theil der Gelatine zeigt eine grüne Fluorescenz. Auf Agar bildet sich ein Belag, der anfangs grünlich, später dunkelgrün fluoresciert. Auf Kartoffeln erscheint der Belag braun gefärbt und wird durch Säuren roth, durch Ammoniak blaugrün. Nach *Gessard* ist die Pigmenterzeugung vom Nährboden abhängig. Der gebildete grüne Farbstoff wird Pyocyanin genannt; er löst sich in Chloroform auf.

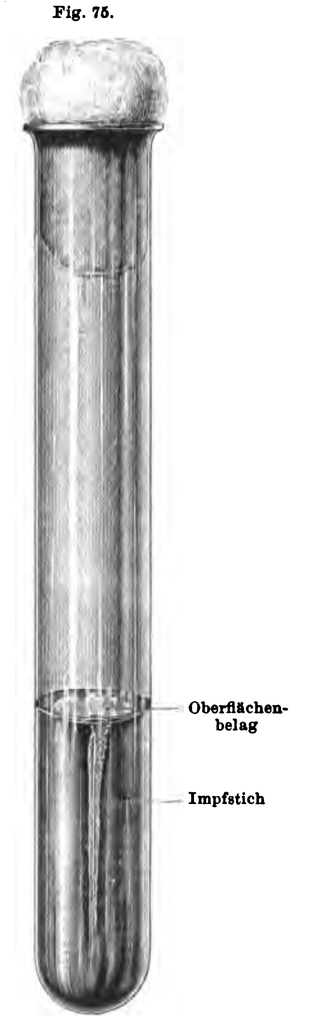
Kaninchen, denen Reinculturen dieses Mikroorganismus oder das Pyocyanin in die Bauchhöhle injiciert wird, gehen zugrunde.

Der von *Ernst* beschriebene Bacillus pyocyaneus β ist nicht pathogen, tritt gewöhnlich gemeinschaftlich mit den früheren auf. Isoliert veranlasst er die blaue Färbung des Eiters. Er verflüssigt die Gelatine viel rascher und zeigt auf Kartoffeln eine Braunfärbung, die durch Berührung mit dem Platindraht in's Graue übergeht (Chamäleonphänomen).

Durch die Reaction der Kartoffelcultur, durch die raschere Verflüssigung und dadurch, dass Einspritzungen keine Wirkung haben, unterscheidet er sich vom Bacillus pyocyaneus α.

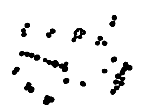
In physiologischer Beziehung bewirkt der Bacillus pyocyaneus eine Gerinnung der Milch, eine rapide Peptonisierung des Eiweisses, eine energische Invertierung und eine Vergährung des Zuckers.

Fig. 75.




*Gelatinestichcultur des Staphylococcus cereus flavus.*

Fig. 74.



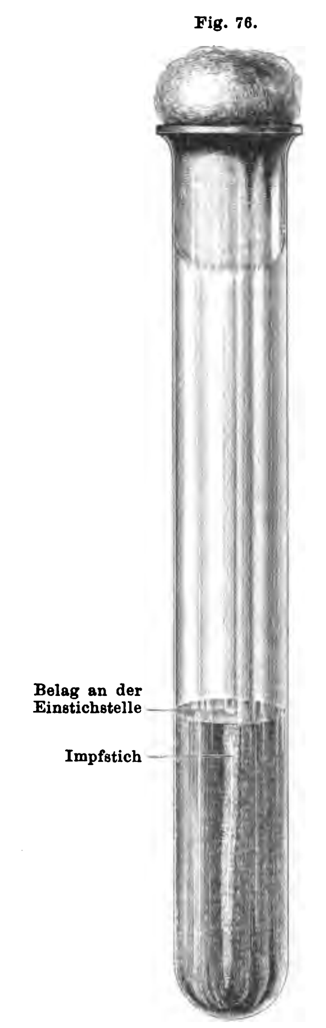
*Isolierte Elemente des Staphylococcus cereus flavus.*

## Staphylococcus cereus.

*Passet* fand im Eiter den Staphylococcus cereus albus und Staphylococcus cereus flavus. Die Kokken sind zu kleinen Haufen geordnet (Fig. 74). Auf der Gelatineplatte bilden sich bei dem Staphylococcus cereus albus weisse Pünktchen, die sich

oberflächlich ausbreiten und die Gelatine nicht verflüssigen. In der Stichcultur findet man gleichfalls einen weissen Belag, der der Oberfläche ein stearintropfenähnliches Aussehen verleiht (Fig. 75). Auf Agar breitet sich vom Striche ein Belag aus, in dessen Umgebung sich noch Colonien finden. Aehnlich ist der Belag auf Kartoffeln, wird aber bald schmutziggrau. Der Staphylococcus cereus flavus unterscheidet sich dadurch, dass bei seinen Culturen die gelbliche Farbe hervortritt. Neben diesen fanden *v. Schrötter* und *F. Winkler* auch den Staphylococcus cereus aureus, der sich durch die orangerothe Farbe der Colonien und durch ein langsameres Wachsthum von den beiden anderen Arten unterscheidet. Sie kommen auch constant im Nasensecrete bei Coryza vor. Der Staphylococcus cereus kann auch innerhalb der Eiterkörperchen, und zwar zu Diplokokken geordnet vorkommen; im Eiter von Urethritis können Verwechslungen mit dem Gonococcus entstehen, doch entfärbt sich letzterer nach der *Gram*'schen Methode, während der Staphylococcus cereus seine Farbe behält.

Fig. 76.




*Gelatinestichcultur des Streptococcus pyogenes.*

## Streptococcus pyogenes.

Bei phlegmonösen Eiterungen findet man constant den von *Rosenbach* beschriebenen Streptococcus pyogenes, der wahrscheinlich mit dem von *Fehleisen* beschriebenen Streptococcus erysipelatis (pag. 81) identisch ist. Er findet sich aber nicht blos beim Erysipel, sondern auch bei Wöchnerinnen im Puerperalprocesse. Er verflüssigt die Gelatine nicht und bildet auf der Platte feine, punktartige Colonien; in der Stichcultur zeigt sich um den Einstich ein zarter, dünner Belag (Fig. 76). Auf Agar treten längs des Striches kleine, thautropfenähnliche Pünktchen auf, welche sich zu einem bandartigen Streifen ordnen. Auf Kartoffeln ändern sich die Elemente insofern, als einzelne Zellen grösser, andere kleiner erscheinen. Bei Bruttemperatur gedeiht er besser als

bei Zimmertemperatur, doch ist das Wachsthum im allgemeinen langsam. Uebertragungen von Culturen in die Lymphbahnen erzeugen nach *E. Fraenkel* ein typisches Erysipel.

## Gonorrhoecoccus.

Die Infectiosität des Trippersecretes wird nach *Neisser* durch Kokken veranlasst, die den Namen Gonokokken erhalten haben und im Secrete durch ihre Anordnung als Diplokokken leicht zu erkennen sind; die Kokken sind nierenförmig, befinden sich im Eiter innerhalb der Zellen um die Kerne geordnet, aber nicht in Verbänden (Fig. 77); sie zeichnen sich von ähnlichen in der Urethra vorkommenden Mikrokokken dadurch aus, dass sie durch die *Gram*'sche Methode sicher entfärbt werden, sonst aber die Anilinfarbstoffe sehr leicht aufnehmen.

Will man aus einem frischen Trippersecret die Gonokokken darstellen, so verfährt man am besten folgendermassen: Ein Tropfen

Fig. 77.



*Tripperkokken aus dem Urethralsecrete (nach Jaksch).*

des Eiters wird auf ein Deckgläschen aufgetragen und leicht ausgebreitet, so dass es von einer dünnen, wolkigen Schichte bedeckt ist. Die gewöhnliche Methode des Abziehens zweier auf einander gelegter Deckgläschen darf hier nicht verwendet werden. Mit einer concentrierten alkoholischen Methylenblaulösung wird nun das Deckgläschen gefärbt, im Wasser abgespült, getrocknet und in Canadabalsam eingeschlossen.

*Neisser* empfahl folgende Doppelfärbung: Man bringt die Deckglaspräparate für einige Minuten in eine erwärmte, concentrierte alkoholische Eosinlösung, saugt das überschüssige Eosin mit Fliesspapier ab, legt die Präparate für $1/4$ Minute in concentrierte alkoholische Methylenblaulösnng und spült in Wasser ab.

Nach *Schütz* bereitet man sich eine filtrierte, gesättigte Lösung von Methylenblau in 5procentigem Carbolwasser und färbt die Präparate durch 5—10 Minuten in der kalten Farbflüssigkeit; nach dem Abspülen in Wasser werden sie für einen Augenblick in sehr verdünnte

Essigsäure gelegt, wieder in Wasser abgespült und in sehr verdünnter Safraninlösung nachgefärbt; dadurch werden die Gonokokken blau und die Eiterzellen lachsfarben.

Zur Differenzierung von anderen Diplokokken werden nach *Steinschneider* und *Galewski* die Präparate für eine halbe Stunde in eine Anilinwassergentianaviolettlösung gebracht, abgespült, für 5 Minuten in Jodkaliumlösung gelegt und in Alkohol so lange belassen, bis das Präparat entfärbt ist, dann wieder abgespült, getrocknet und in verdünnter alkalischer Methylenblaulösung nachgefärbt, die Gonokokken sind hell, die anderen Diplokokken schwärzlich gefärbt.

Um rasch eine Reihe von Secreten auf ihren Gonokokkengehalt untersuchen zu können, verwendet *F. Winkler* folgendes Antrocknungsverfahren: Ein reiner Objectträger wird mit einem kleinen Tropfen Trippersecret beschickt und sofort, ohne zuvor lufttrocken zu werden, mehrmals durch die Flamme gezogen, wodurch der Eiter in einer dünnen Schichte angetrocknet wird; darauf wird diese Eiterschichte mit einer concentrierten alkalischen Methylenblaulösung übergossen, nach einer halben Minute in Wasser gewaschen, über der Flamme getrocknet und in Canadabalsam eingeschlossen. Die Eiterzellen erscheinen blassblau, die Gonokokken dunkelblau.

Die gewöhnlichen Nährmaterialien, die sich für das Wachsthum der anderen Mikroorganismen als günstig erweisen, lassen uns beim Gonococcus gänzlich im Stiche; er gedeiht weder auf Gelatine, noch auf Agar, noch auf Kartoffeln, dagegen, wie *Bumm* nachwies, auf menschlichem Blutserum. Die Culturen nach *Bumm* zeigen einen graugelblichen Belag, der durch seine zackigen Erhebungen einer Gebirgspartie ähnlich ist, und dessen Ränder diffus in die Umgebung hineinragen. Das Blutserum wird nicht verflüssigt. Die zweckmässigste Temperatur liegt zwischen 33° und 27° C.; das Wachsthum ist sehr langsam und geht in drei Tagen zu Ende. Nach *v. Schrötter* und *F. Winkler* liefern Züchtungsversuche auf Kibitzeiweiss gute Resultate. Schon nach sechs Stunden zeigt sich bei Bruttemperatur auf der Oberfläche der erstarrten Eiweissmasse ein dünner, ziemlich durchsichtiger, weisslicher Belag, der rasch an Ausdehnung zunimmt, aber schon nach wenigen Tagen sein Wachsthum einstellt.

Auf der Klinik des Prof. *F. Schauta* in Wien wurden von *Wertheim* Züchtungsversuche auf einem Nährboden vorgenommen, der aus einer Mischung von 2—3 Theilen Peptonglycerinagar und 1 Theil menschlichen Blutserums besteht. Das Blutserum gewinnt er aus dem Blute des mütterlichen Theiles des durchschnittenen, nicht unterbundenen Nabelstranges, das in sterilisierten Kölbchen aufgefangen wurde. Auf diese Weise war *Wertheim* in die Lage versetzt, die Gonokokken in Plattenculturen zu züchten, wo er mit freiem Auge sichtbare Colonien im Brutschranke schon nach 24 Stunden beobachten konnte. Die Gonokokken vermehren sich rasch, zeigen die für sie charakteristischen Formen und Färbungen und geben durch Uebertragung auf den Menschen das beste Zeugnis für ihre specifische Wirkung. Das ganze Verfahren von *Wertheim* liefert überraschende Ergebnisse; nach seinen Untersuchungen erfolgt das Wachsthum bei Entziehung des Sauerstoffes bedeutend rascher als bei Sauerstoffzutritt.

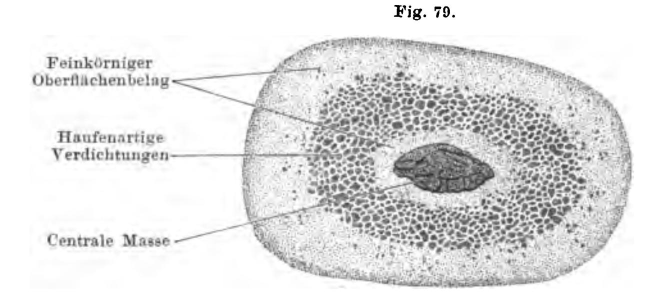
Nach 24 Stunden erscheint die Platte diffus getrübt und ähnelt einem lockeren, zarten Moosrasen. Die meisten Colonien entwickeln sich in der Substanz des Nährbodens; die tiefen Colonien erscheinen im auffallenden Lichte weisslichgrau, im durchfallenden gelbbraun; nach 3 Tagen ist ihre höckerige Beschaffenheit so gleichmässig, dass sie den Eindruck einer Brombeere machen (Fig. 78). Die oberfläch-

Fig. 78.

*Tiefliegende Colonie des Gonococcus auf der Blutserumagarplatte (nach Wertheim).*

lichen Colonien haben in ihrer Mitte ein central gelegenes, compactes Pünktchen, das in seinem Bau, bei schwacher Vergrösserung betrachtet, mit den tiefen Colonien übereinstimmt und nach allen Seiten von einem anfangs sehr zarten, durchsichtigen, feinkörnigen, farblosen Oberflächenbelag umgeben ist, der nach 3 Tagen um die centrale

Fig. 79.




*Oberflächliche Colonie des Gonococcus auf der Blutserumagarplatte (nach Wertheim).*

Masse zahlreiche, kleine, haufenartige Verdichtungen von bräunlichgelber Farbe zeigt (Fig. 79).

## Syphilisbacillus.

In den syphilitisch erkrankten Geweben und im eiterigen Belag fand *Lustgarten* kleine Kommabacillen, die schwach **S**-förmig gekrümmt sind; ausserhalb des Körpers wurden sie bisher noch nicht gezüchtet; sie kommen innerhalb der Gewebe nicht in den Zwischenräumen von Faserzügen und anderen Gewebselementen vor, sondern in Zellen eingeschlossen, die um vieles grösser sind als die weissen Blutkörperchen. Von besonderem Interesse sind die Färbungsmethoden. In Geweben werden die Färbungen nur an den aus ihnen bereiteten feinen Durchschnitten vorgenommen; von Secreten wird auf ein Deckgläschen aufgetragen und verrieben. Die Färbung erfolgt mit der *Ehrlich*'schen Lösung von Anilinwassergentianaviolett.

Bei Zimmertemperatur bleiben die Präparate bis 24 Stunden, bei Bruttemperatur 2 Stunden in der Farbstofflösung. Hierauf kommen die Präparate in absoluten Alkohol und dann für 10 Secunden in eine $1^1/_2$procentige Lösung von übermangansaurem Kali. Auf diese Weise werden die Gewebe entfärbt, während die Bacillen ihre violette Farbe behalten. Um den auf den Präparaten entstandenen Niederschlag von Manganhyperoxyd zu entfernen, werden die Präparate in eine wässerige Lösung von schwefeliger Säure getaucht. Nachdem das Präparat in der gewöhnlichen Weise in Canadabalsam eingeschlossen ist, kann es mikroskopisch untersucht werden. Die gefärbten Bacillen lassen sich durch Zusatz von Eisessig sofort entfärben; andere Säuren bringen die Entfärbung langsamer zu Stande.

Besser als die Methode *Lustgarten's* ist die von *de Giacomi* angegebene Methode, nach der die Präparate in einer *Ehrlich*'schen Anilinwasserfuchsinlösung gefärbt und mit Eisenchloridlösung nachbehandelt werden. *Lewy* empfiehlt als sicherste und bequemste Methode die Färbung in Carbolfuchsin und die Entfärbung mit destilliertem Wasser. Nach *Doutrelepont* und *Schütz* werden die Präparate in einer 1procentigen wässerigen Methylviolettlösung durch 24 Stunden gefärbt, durch einige Secunden in einer verdünnten Salpetersäure entfärbt und auf 10 Minuten in einen circa 60procentigen Alkohol gebracht. Dann werden die Schnitte durch einige Minuten in einer wässerigen Safraninlösung nachgefärbt und in 60procentigem Alkohol ausgewaschen. Dadurch erscheinen die Bacillen blau, die Kerne und das Gewebe hellroth.

*Marschalko* empfiehlt, die Schnitte aus syphilitischen Geweben und die Deckglaspräparate mit syphilitischen Secreten durch 3 bis 4 Stunden bei Bruttemperatur oder durch 12—24 Stunden bei Zimmertemperatur mit *Löffler*'schem Methylenblau zu färben, in Wasser abzuspülen und dann durch 1—5 Minuten in einer concentrierten wässerigen Vesuvinlösung nachzufärben.

## Tuberkelbacillus.

Die Tuberculose wurde bereits von älteren Aerzten als infectiöse Krankheit angesehen; die Ansicht von der Ansteckungsfähigkeit der Tuberculose dürfte älter sein als die von den pathologischen Anatomen (*Virchow, Rokitansky*) seinerzeit vertretene Lehre, die sich auf die Beschreibung des makroskopischen und mikroskopischen Befundes beschränkte. Durch *Koch* wurde die Ursache der Tuberculose in den Tuberkelbacillen gefunden, welche sich in allen tuberculös veränderten Producten des menschlichen und thierischen Körpers nachweisen lassen. Sie bieten eine Grundlage für die Lehre der Uebertragung der Tuberculose, indem *Koch* mit Reinculturen an Versuchsthieren eine typische Tuberculose erzeugen konnte. Nach *Lortet* und *Despeignes* werden die Tuberkelbacillen häufig durch Regenwürmer verbreitet.

Die Tuberkelbacillen sind feine Stäbchen nahezu von der Grösse eines menschlichen Blutkörperchens, etwas gekrümmt, häufig zu Gruppen von zwei oder mehreren, seltener aber zu grösseren Verbänden vereinigt; eine Eigenbewegung fehlt ihnen. Sie bilden

sowohl in der künstlichen Cultur als auch im Thierkörper **Sporen** von ovaler Gestalt. Sie besitzen einen hohen Grad von Resistenz gegenüber der Austrocknung, der Siedehitze, dem Einflusse des Magensaftes und der Fäulnis.

Nach *Hammerschlag* ist zu ihrem Gedeihen das Vorhandensein von Kohlehydraten oder Glycerin nothwendig.

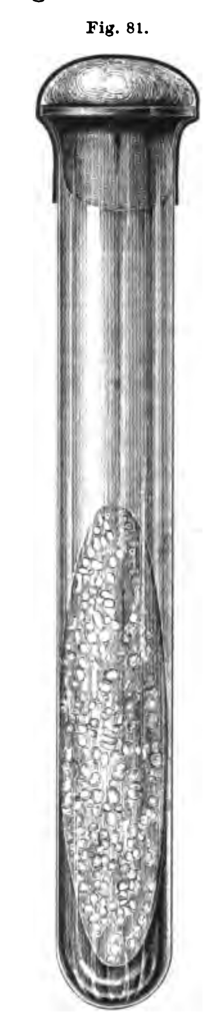
Wenn man eine Reincultur der Tuberkelbacillen erhalten will, so schlägt man folgenden Weg ein. Das Sputum von Phthisikern wird aufgeschwemmt und mehreren Meerschweinchen in die Bauchhöhle in eine am Bauche angelegte Unterhauttasche injiciert; nach 3—5 Wochen ist die Tuberculose so weit vorgeschritten, dass ein oder das andere Thier stirbt. Bei der Section findet man Tuberculose in den verschiedenen Organen, besonders im Netz, in der Milz und der Leber. Darauf wird nun ein anderes Thier durch Erdrosseln getödtet, unter allen Vorsichtsmassregeln der Desinfection ein Fenster in die Brustwand des Thieres geschnitten und ein Lungenzipfel mit dem Platindraht herausgezogen. Diesem Lungentheil entnimmt man nun einige deutliche Tuberkelknötchen, bringt sie zwischen zwei Objectträger und verreibt sie; selbstverständlich müssen sämmtliche Utensilien,

Fig. 80.



*Klatschpräparat von einer Blutserumcultur des Tuberkelbacillus.*

Fig. 81.



*Blutserumcultur des Tuberkelbacillus (nach Baumgarten).*

wie Messer, Scheren, Objectträger, sorgfältig sterilisiert sein. Nun werden die mit der zerdrückten Tuberkelmasse inficierten Objectträger auf erstarrtes Blutserum gebracht, das in Glasschalen ausgegossen worden ist; mit einem starken Platindraht wird die Tuberkelmasse über das Blutserum verstrichen, die Glasschalen mit Glasplatten zugedeckt und in den Wärmeschrank gestellt. Nach

ungefähr drei Wochen sind die Colonien ausgebildet, aus denen man dann weitere Reagensculturen anlegen kann. Bei schwacher Vergrösserung beobachtet, zeigen die Culturen S-förmig geschwungene, in der Mitte verdickte Figuren, die aus zusammengelegten Bacillen bestehen (Fig. 80). Die Colonien bilden trockene, weisse, höchstens mohnkorngrosse, glanzlose Schüppchen, die der Oberfläche des Nährbodens nur lose anhaften, niemals in dessen Substanz eindringen und ihn nicht verflüssigen (Fig. 81).

Um aus dem Sputum Reinculturen von Tuberkelbacillen zu erhalten, gibt *Pastor* folgendes Verfahren an: Man wählt einen Patienten, dessen Sputum sehr bacillenreich ist und verhältnismässig geringe Verunreinigungen mit anderen Mikroorganismen aufweist, lässt die Mund- und Rachenhöhle wiederholt mit sterilisiertem Wasser ausspülen und dann in ein sterilisiertes Reagensglas expectorieren. Das Sputum oder besser der flüssige Inhalt phthisischer Cavernen wird mit sterilisiertem Wasser aufgeschüttelt und zur Entfernung der gröberen Partikelchen durch feine Gaze filtriert. Einige Tropfen des Filtrats werden mit flüssiger Nährgelatine so vermischt, dass sie nicht stark getrübt wird, und auf Platten ausgegossen, die bei Stubentemperatur unter Glasglockenverschluss belassen werden. Nach 3—4 Tagen treten die verschiedenartigen Colonien der das Sputum verunreinigenden Bakterien auf. Mit der Lupe werden nun die zwischen den Colonien klar gebliebenen Stellen der Gelatine herausgesucht, vorsichtig mit einem desinficierten Messer herausgeschnitten und auf die schräg erstarrte Oberfläche des Blutserums gebracht.

Nach *Kitasato* stellt man aus dem Sputum die Reinculturen folgendermassen dar: Der Patient wird angehalten, das Sputum des Morgens in sterilisierte Doppelschälchen zu entleeren. Eine aus den tieferen Partien des Respirationsapparates stammende Flocke wird mit sterilisierten Instrumenten isoliert und in mindestens zehn mit sterilisiertem Wasser gefüllten Schälchen nach einander sorgfältig gewaschen, um die beim Passieren der Mundhöhle mitgenommenen Bakterien zu entfernen. Die Flocke wird nun auf Glycerinagar oder auf Blutserum gebracht; nach etwa 14tägigem Aufenthalt im Brutschranke bilden sich die ersten Colonien, die als kreisrunde, rein weisse, durchsichtige Flecken erscheinen, welche über die Oberfläche des Nährbodens vorragen. Dabei sind die Colonien flach, glänzend und glatt, während die nach der früheren Methode aus tuberculösen Organen gewonnenen Bacillencolonien von Anfang an trocken, matt und gefaltet erscheinen; im weiteren Verlaufe des Wachsthums schwinden die Unterschiede; es bedeckt sich der ganze Nährboden mit einem Belage, der aus mannigfach verschlungenen Zügen besteht.

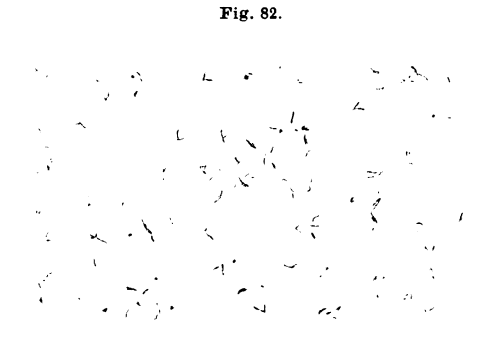
*Hammerschlag* erhielt ein üppiges Wachsthum, indem er zum Agar Mannit und Traubenzucker zusetzte. Nach *Pawlowsky* zeigen sich nach 12—20 Tagen auf der Oberfläche der Kartoffeln weisse, ablösbare Colonien; die Kartoffelscheiben müssen aber in luftdicht verschlossenen Glasröhren vor Verdunstung geschützt sein. Nach *Koch* gedeihen die Tuberkelbacillen in der üppigsten Weise auch auf einem Kalbfleischinfus, das schwach alkalisch ist und einen Zusatz von 4—5 Procent Glycerin und 1 Procent Pepton enthält.

Die Ueberimpfungen werden derart vorgenommen, dass ein nicht zu kleines Stück der Aussaatcultur auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmt. Nach mehrwöchentlichem Aufenthalt im Brutkasten ist die Oberfläche der Flüssigkeit von einer ziemlich dicken, oben trockenen, oft faltigen Haut bedeckt, die einige Wochen später von der Flüssigkeit benetzt wird, in einzelne lappenförmige Stücke zerfällt und untersinkt. Das vollständige Wachsthum braucht 6—8 Wochen.

Bezüglich der Färbung der Tuberkelbacillen ist nach *Koch* die alkalische Reaction der Farblösung von bedeutender Wichtigkeit, indem die Bacillen nur unter gleichzeitiger Einwirkung von Alkalien die Anilinfarbstoffe aufnehmen. Um den Untersucher zu schützen, empfiehlt *Pampukes*, die tuberculösen Sputa vor der Untersuchung bei 120° zu sterilisieren, da hierdurch ihre Färbungsfähigkeit nicht beeinträchtigt wird.

Für die praktische Untersuchung ist die Bemerkung von *Dahme* wichtig, dass die am Boden des Sputums liegenden Flocken den grössten Gehalt an Bacillen zeigen (Fig. 82).

Fig. 82.



*Tuberkelbacillen aus dem Sputum (nach Jaksch).*

Nach *Koch* und *Ehrlich* wird das zu untersuchende Sputum auf eine dunkle Unterlage ausgeschüttet und die zähen gelblichen Partikelchen („Linsen“) herausgesucht. Mittelst eines Federhalters mit halbseitig durchbrochener Stahlfeder wird nun ein möglichst kleines Klümpchen dem Sputum entnommen und zwischen zwei Deckgläschen verrieben. Bei sehr zähen Sputis werden die Deckgläschen, zwischen denen das Klümpchen ausgebreitet ist, vor dem Voneinanderziehen auf einer „Hitzplatte“ bei einer Temperatur unterhalb 100° C. so lange liegen gelassen, bis eine leichte, auf Coagulation hindeutende Trübung entstanden ist. Das trockene Deckgläschenpräparat wird dreimal durch die Flamme gezogen und in einer erwärmten Anilinwasserfuchsinlösung oder Anilinwassermethylviolettlösung durch $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde gefärbt; zur Entfärbung bringt man das Deckgläschen in eine Säuremischung, die auf 1 Theil Salpetersäure 2 Theile Wasser und 2 Theile Sulfanilsäure enthält, oder in salzsauren Alkohol; darauf wird das Präparat in 60procentigem Alkohol abgespült und bei der Rothfärbung der Tuberkelbacillen in Methylenblau oder Malachitgrün, bei der Blaufärbung der Bacillen

in Vesuvin oder Bismarckbraun nachgefärbt; nach einer nochmaligen Abspülung wird es getrocknet und in Canadabalsam eingeschlossen.

*Kaatzer* hat dieses Verfahren in folgender Weise modificiert: Das Sputum, am besten das erste Morgensputum, das in eine ganz leere Spuckschale entleert wurde, wird über ein schwarzes Tellerchen oder ein Stück schwarzes Glanzpapier ausgebreitet. Aus einer gelbeiterigen Stelle wird nun mittelst einer vorher ausgeglühten Platinnadel, deren Spitze scalpellähnlich plattgedrückt ist, ein minimales Partikelchen herausgehoben und zwischen zwei Deckgläschen verrieben, die darauf dreimal durch die Flamme gezogen werden. Die Färbung erfolgt in einer vorher erwärmten Anilinwassergentianaviolettlösung; zur Entfärbung werden die Präparate aus dem erkalteten Gentianaviolett in einen salzsauren Alkohol gebracht, der auf 100 Theile Alkohol 20 Theile Wasser und 2 Theile Salzsäure enthält. In dieser Mischung bleiben die Präparate $^1/_2$—1 Minute, werden dann für eben so lange in concentrierten Alkohol übertragen und dann in Wasser abgespült. Die Deckgläschen werden nun getrocknet und zur Nachfärbung für $^1/_2$—1 Minute in eine filtrierte, concentrierte, wässerige Lösung von Vesuvin gebracht, in 96procentigem Alkohol abgespült und mit einem Tropfen Wasser unter das Mikroskop gebracht. Die Tuberkelbacillen erscheinen dunkelviolett, ja fast schwarz gefärbt, weil das Anilinbraun den blauen Theil des Spectrums absorbiert und ein blauer Gegenstand in einer braunen Lösung schwarz erscheinen muss. Die übrigen Theile des Präparates sind braun.

*Günther* verwendet folgende Methode: Das mit dem Sputum bestrichene und in der Flamme fixierte Deckglas wird mit der Sputumschichte nach unten in ein mit Anilinwasserfuchsinlösung gefülltes Uhrschälchen gebracht, dessen Mitte nun über einer s e h r k l e i n e n Flamme unter senkrechtem Auf- und Abbewegen erhitzt wird. Wenn die Flüssigkeit Blasen zu werfen beginnt, bricht man die Erhitzung ab, stellt das Schälchen auf den Tisch und lässt es eine Minute lang stehen; so erhitzt man das Schälchen etwa fünfmal und lässt es eben so oft je eine Minute stehen. Das Deckglas wird nun aus der Farbe genommen und mit der Sputumschichte nach oben in ein Uhrschälchen mit 3procentigem Salzsäurealkohol gegeben; hier wird es eine Minute lang hin- und herbewegt. Darauf wird es in Wasser abgespült und mit einigen Tropfen einer verdünnten wässerigen Methylenblaulösung beträufelt, nochmals abgespült, getrocknet, dreimal durch die Flamme gezogen und in Xylolcanadabalsam eingeschlossen.

Bei dem *Ziehl-Neelsen*'schen Verfahren wird das in die Pincette eingeklemmte Sputumdeckglas mit einer alkoholischen Carbolfuchsinlösung überdeckt, über einer matten Spiritusflamme erwärmt, bis Blasen aufsteigen, im Wasser abgespült und mit einer 5procentigen Schwefelsäurelösung übergossen; hierauf wird es in 70procentigem Alkohol abgespült, getrocknet und mit einer wässerigen Methylenblau- oder Malachitgrünlösung nachgefärbt.

Nach *Friedländer* verstreicht man etwas Sputum auf zwei Objectträgern, zieht sie dreimal durch die Flamme, bedeckt die Sputumschichte mit 2—3 Tropfen Carbolfuchsin, zieht sie neuerdings durch die Flamme, benetzt mit Wasser und einigen Tropfen salpetersauren

Alkohols, spült mit Wasser und wässeriger Methylenblaulösung ab und untersucht ohne Deckgläschen mit Oelimmersion.

*Kühne* empfiehlt, das Sputum mit einer concentrierten Boraxlösung in einem Glase durchzuschütteln und so flüssiger zu machen. Die Deckgläser werden durch 5 Minuten in Carbolfuchsin gefärbt, in 30procentiger Salpetersäure entfärbt, in Wasser abgespült, getrocknet und in einem Tropfen Anilinöl untersucht, das durch Pikrinsäure leicht gelb gefärbt ist. Man setzt am besten 2—3 Tropfen einer concentrierten Lösung von Pikrinsäure in Anilinöl zu einem Uhrschälchen voll reinen Anilinöls zu. Um Dauerpräparate zu erhalten, färbt man nach der Entfärbung durch die Salpetersäure in einer wässerigen Pikrinsäurelösung durch einige Minuten nach, trocknet und conserviert in Balsam. Um die Löslichkeit der Pikrinsäure in Wasser zu erhöhen, eignet sich ein Zusatz von 4procentiger Citronensäure.

Bei dem Verfahren von *B. Fränkel* und bei dem von *Gabbet* wird die Färbung und Gegenfärbung zusammengezogen. Zur Färbung dient Anilinwasserfuchsin; man bringt darauf das Präparat direct in eine filtrierte Mischung von 50 Theilen Alkohol, 30 Theilen Wasser, 20 Theilen Salpetersäure und so viel Methylenblau, als sich nach wiederholtem Schütteln löst. Hat man zur Färbung Anilinwassergentianaviolett verwendet, so wird das Präparat in eine Vesuvinlösung gebracht, die eine filtrierte Mischung von 70 Theilen Alkohol, 30 Theilen Salpetersäure und so viel Vesuvin ist, als sich löst. Nach kurzer Zeit (1—2 Minuten) ist die Färbung beendigt; das Präparat wird in Wasser oder schwach mit Essigsäure versetztem Alkohol abgespült und gut getrocknet.

Nach der *Gabbet*'schen Modification wird anstatt der Anilinwasserfarblösung das *Ziehl-Neelsen*'sche Carbolfuchsin und als zweite Farbe Methylenblauschwefelsäure verwendet, die auf 100 Theile einer 25procentigen Schwefelsäure 1—2 Theile Methylenblau enthält.

Nach *Arens* wird in einem Uhrglase ein etwa hirsekorngrosser Fuchsinkrystall mit drei Tropfen absoluten Alkohols übergossen, um eine gesättigte alkoholische Fuchsinlösung zu erhalten. Diese Lösung wird mit 2—3 Ccm. Chloroform versetzt, es entsteht eine Trübung der Lösung, die sich mit dem Abscheiden von flockigem Fuchsin zu klären beginnt. In die geklärte Lösung bringt man das nach der gewöhnlichen Weise hergerichtete Deckglaspräparat für 4—6 Minuten, lässt das Chloroform verdunsten und entfärbt in einem Uhrglase voll 96procentigem Alkohol, dem 3 Tropfen Salzsäure zugesetzt sind. Man spült nun in Wasser ab und untersucht in Wasser, eventuell färbt man mit Methylenblau nach.

*Gibbes* gab folgende Vorschrift: Man trägt in eine Lösung von 3 Ccm. Anilinöl in 15 Ccm. absoluten Alkohols langsam 2 Grm. Fuchsin und 1 Grm. Methylenblau ein, bis sie vollständig aufgelöst sind, und setzt 15 Ccm. Wasser zu. Wenige Tropfen dieser Flüssigkeit werden in der Eprouvette erhitzt und in ein Schälchen gegossen, in das auf 5 Minuten das Deckgläschen gelegt wird; hierauf wird dieses so lange mit Alkohol gewaschen, bis keine Farbe mehr abgegeben wird. Die Bacillen sind roth auf blauem Grunde. Zur Nachfärbung empfiehlt sich eine concentrierte wässerige Eosinlösung.

Mitunter ist es zweckmässig, die Deckglaspräparate verschiedenen Untersuchungsmethoden zu unterwerfen. *Kaatzer* empfiehlt, dasselbe Präparat zuerst nach *Ziehl-Neelsen* oder *B. Fränkel* mit Carbolfuchsin zu färben und mit der Immersionslinse zu untersuchen, das Cedernöl mit Fliesspapier und Alkohol zu entfernen, das Präparat in der Flamme zu trocknen, in dem erhitzten Anilinwassergentianaviolett zu färben, in salzsaurem Alkohol zu entfärben und durch 1—2 Minuten in Vesuvin nachzufärben. Die Tuberkelbacillen, die bei der ersten Untersuchung roth waren, sind durch die zweite Färbung dunkelviolett auf leicht braunem Grunde geworden.

Zur Controle in zweifelhaften Färbungsfällen kann das *Baumgarten*'sche Verfahren verwendet werden. Das an der Luft getrocknete und dreimal durch die Flamme gezogene Sputumpräparat wird zuerst zur Entfettung in ein Uhrschälchen mit Chloroform auf einige Minuten gelegt, mit absolutem Alkohol abgespült und nach Verdunstung des Alkohols auf den Objectträger in einen Tropfen Kalilösung gebracht, die man sich durch Zusatz von 2—3 Tropfen einer 33procentigen Kalilauge auf einem Uhrschälchen voll Wasser bereitet. Ergibt nun die mikroskopische Untersuchung (ohne Oelimmersion) das Vorhandensein von Stäbchen, so wird das Deckgläschen vom Objectträger abgenommen, lufttrocken gemacht, dreimal durch die Flamme gezogen und mit einigen Tropfen einer verdünnten wässerigen Methylviolettlösung benetzt und sofort mikroskopisch untersucht. Die im Präparate etwa vorhandenen Tuberkelbacillen bleiben innerhalb einer 5—10 Minuten langen Beobachtungsdauer vollkommen farblos, während die übrigen Bakterien fast sofort eine blaue Farbe annehmen.

In sehr zweifelhaften Fällen, in denen die gewöhnlichen Färbungsmethoden im Stiche lassen, müssen Sedimentpräparate angefertigt werden. Man schüttelt nach *Stroschein* einen Esslöffel Sputum mit drei Esslöffeln einer Mischung von 1 Theil einer concentrierten Borsäurelösung und 3 Theilen Wasser im Reagensglase tüchtig durch, bis das Sputum verflüssigt ist, giesst es in ein Spitzglas, lässt es 24 Stunden stehen, giesst die obere klare Flüssigkeit ab und fertigt aus dem Bodensatze ein Deckglastrockenpräparat an.

Nach *Biedert* wird 1 Esslöffel Sputum mit 2 Esslöffeln Wasser und 7—8 Esslöffeln Natronlauge gekocht; dann werden weitere 4 Esslöffel Wasser zugesetzt und gekocht, bis die Masse gleichmässig flüssig geworden ist; diese bleibt in einem Spitzglase durch 3 bis 4 Tage zugedeckt stehen und wird dann bis auf eine Höhe von 5 bis 8 Mm. abgegossen. Von dem mit etwas frischem Hühnereiweiss tüchtig umgerührten Bodensatze wird etwas auf einem Deckgläschen verrieben, unter mässiger Wärme angetrocknet und nach *Ziehl-Neelsen* gefärbt. Zur Fixierung an dem Deckglase kann man auch statt des Hühnereiweisses eine kleine Menge des nicht behandelten Sputums derselben Herkunft verwenden.

Besonders wichtig ist die Sedimentierung bei der Untersuchung von Flüssigkeiten, die an corpusculären Elementen arm sind; man ersetzt sie zweckmässig durch die Centrifugierung. Bei Mangel eines Centrifugalapparates versetzt man nach *des Vos* Hühnereiweiss mit der vierfachen Menge destillierten Wassers, wobei sich die Globuline

als grossflockige Masse zu Boden senken; von dem darüber stehenden opalescierenden, verdünnten Eiweiss werden bis zu 10 Ccm. der zu untersuchenden Flüssigkeit zugesetzt, das Ganze gut durchgeschüttelt und bis zur Gerinnung des Eiweisses im Wasserbad erhitzt. Je nach der Menge des hinzugefügten Eiweisses bildet sich in kurzer Zeit ein grösseres oder geringeres Quantum eines feinflockigen Sediments, das auf Bacillen zu untersuchen ist.

Um Milch auf Tuberkelbacillen zu untersuchen, ist es zweckmässig, einen Tropfen der verdächtigen Milch auf ein Deckgläschen zu bringen und 2—3 Tropfen einer 1procentigen Natriumcarbonatlösung hinzuzufügen. Das Ganze wird mit einer Platinnadel gut vermischt, und darauf das Deckgläschen über einer kleinen Flamme vorsichtig bis zur völligen Verdunstung erwärmt. Hierbei werden die Fette verseift, so dass schliesslich nur eine dünne Lage Seife auf dem Deckgläschen zurückbleibt. Färbung u. s. w. wie bei den gewöhnlichen Deckglaspräparaten.

Bezüglich der Färbung der Tuberkelbacillen in Gewebsschnitten gelten dieselben entsprechend modificierten Methoden, über die das Genauere im allgemeinen Theile nachgesehen werden möge (siehe pag. 59).

Hier sei nur bemerkt, dass die gewöhnliche Färbungsmethode der Schnitte in der Anwendung der *Ziehl*'schen Lösung besteht; doch muss man die Schnitte eine Stunde oder noch länger in der Farbe liegen lassen; die Entfärbung erfolgt in 10procentiger Salpetersäure durch $^1/_2$—1 Minute, bis die rothe Farbe geschwunden ist. Man bringt dann die Schnitte in 70procentigen Alkohol, bis sie einen rosarothen oder gänzlich verblassten Ton bekommen. Die Nachfärbung erfolgt mit Methylenblau; darauf wird in Alkohol ausgewaschen und in Canadabalsam conserviert. Die Bacillen sind in den Geweben vertheilt oder stellenweise zwischen den Lymphzellen in Massen eingelagert oder auch in dieselben aufgenommen. Auch in den sogenannten Riesenzellen findet man Bacillen eingeschlossen.

Zur Darstellung des wirksamen Princips, des Tuberculins, hat *Koch* die auf Kalbfleischglycerininfus gewonnenen Reinculturen der Tuberkelbacillen auf dem Wasserbade auf den zehnten Theil des Volumens eingedampft und die Flüssigkeit durch ein Thonfilter filtriert. Nach dem Vorgange von *Klebs* kann aus dem Tuberculin eine Albumose dargestellt werden, welche er als Tuberculocidin bezeichnet; man behandelt das Tuberculin mit Platinchlorid oder mit den sogenannten Alkaloidreagentien und fällt die dabei in Lösung bleibende Albumose durch Alkohol aus.

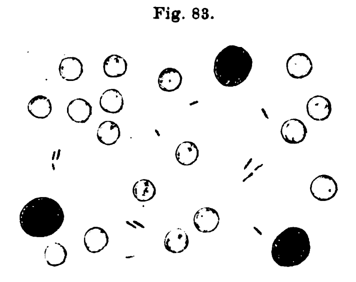
## Rotzbacillus.

Als Ursache der Rotzkrankheit (Malleus) fanden *Löffler* und *Schütz* den Rotzbacillus. Die Krankheit kann vom Pferde und Esel auch auf den Menschen übertragen werden. Man findet die Rotzbacillen auch in den sogenannten Rotzknötchen, von denen aus sie in die Umgebung eindringen und Krankheitserscheinungen veranlassen, die in der Regel in der Nasenhöhle auftreten und auf der Schleimhaut der Nasenmuschel, auf der Schleimhaut des Kehlkopfes und in den Lungen tiefe Geschwüre bilden; die nächst-

liegenden Lymphdrüsen sind geschwellt und verdickt, ebenso wie die Lymphgefässe der Haut, von denen aus häufig Durchbrüche nach aussen mit Geschwürsbildung stattfinden.

Die Bacillen sind schlanke Stäbchen mit abgerundeten Enden, etwa von der Grösse der Tuberkelbacillen, ohne Eigenbewegung und gedeihen auf unseren Nährböden nur bei Bruttemperatur: bei einer Temperatur über 42° stellen sie ihr Wachsthum ein. Die Gelatine ist deshalb nicht gut verwendbar, weil bei niedriger Temperatur das Wachsthum sehr spärlich ist. Die Bacillen gedeihen aber sehr gut auf Glycerinagar bei 37° C., wobei sich schon am zweiten Tage auf der Platte hellgelbe oder weissliche, rundliche Auflagerungen zeigen. Längs des Impfstiches entwickelt sich auf Glycerinagar nach 4—5 Tagen ein glänzender Ueberzug. Auf Blutserum erscheinen an der Oberfläche gelbliche Auflagerungen, die mit einander zusammenfliessen und eine schleimige Decke bilden. Besonders wichtig ist die Züchtung auf Kartoffeln. Es zeigt sich bei Bruttemperatur anfangs ein gelblicher, durchsichtiger Belag, der allmälig zunimmt und eine dunklere Farbe erhält. Etwa nach einer Woche

Fig. 83.



*Rotzbacillen im Menschenblute (nach Jaksch).*

ändert sich die Farbe des Belages in Rothbraun und geht schliesslich in Roth über. Die Bacillen nehmen die Anilinfarbstoffe leicht auf, geben sie aber bei Anwendung der *Gram*'schen Methode wieder ab (Fig. 83).

Das *Löffler*'sche Färbungsverfahren besteht darin, dass die Deckglaspräparate in heissem alkalischem Anilinwassergentianaviolett oder Anilinwasserfuchsin, das einen Zusatz von 1 Procent Natronlauge enthält, durch 5 Minuten gefärbt werden. Die Entfärbung erfolgt in einer 1procentigen Essigsäure, der man durch eine wässerige Lösung von Tropäolin 00 eine weingelbe Farbe gibt. Hier bleiben die Präparate durch 1 Stunde und werden in Wasser abgespült.

Nach *Kühne* behandelt man die Deckgläser mit heissem Carbolfuchsin oder Carbolmethylenblau und entfärbt in Wasser, von dem 100 Grm. 2 Tropfen Salzsäure enthalten.

Um die Rotzbacillen in Schnitten zu färben, hat *Kühne* folgende Methode angegeben, die in ihrer Ausführung sicher und leicht ist. Die ausgewässerten, mit Carbolmethylenblau gefärbten Schnitte werden kurz in salzsaurem Wasser entfärbt, gut in Wasser abgespült und danach entweder flüchtig in Alkohol getaucht oder durch aufgedrücktes Fliesspapier möglichst vom Wasser befreit. Nun lässt

man ein mit 20 Procent Terpentinöl versetztes Anilinöl 8—10 Minuten lang in einem Schälchen auf die Schnitte einwirken, wobei sie auf den Deckgläschen haften bleiben, und überträgt sie in Terpentinöl, Xylol und Balsam.

*Noniewicz* empfiehlt, die Schnitte durch einige Minuten in alkalischem Methylenblau zu färben, in Wasser abzuspülen und in einer Mischung aus 3 Theilen einer halbprocentigen Essigsäure und 1 Theil von $^1/_2$procentigem wässerigem Tropäolin 00 zu entfärben. Dünne Schnitte werden nur rasch untergetaucht, dicke können 2—5 Secunden und länger darin bleiben. Sie werden dann in Wasser ausgewaschen, auf dem Objectträger ausgebreitet, vom Wasser durch Fliesspapier befreit, an der Luft getrocknet, in Xylol aufgehellt und in Canadabalsam eingeschlossen. Die Rotzbacillen erscheinen schwarz auf einem mehr oder weniger blauen Grunde. Mit dieser Methode ist der Nachweis erbracht worden, dass bei der acuten Form der Krankheit die charakteristischen Bacillen erscheinen, während bei der chronischen Form die Bacillen spärlicher sind und dafür intensiv färbbare, runde Körperchen in grosser Zahl auftreten.

Die Rotzbacillen finden sich auch innerhalb von zugrunde gegangenen Zellen; die Gefässe sind frei, und im Blute treten nur wenige Bacillen auf. Die Uebertragungsversuche mit den Reinculturen ergaben erfolgreiche Resultate; die Infection geht zumeist von Verletzungen der Haut aus; die Ansteckungsfähigkeit ist bedeutend; eine drei Monate dauernde Eintrocknung verändert die Infectionskraft nicht.

## Andere Eitermikroben.

Es ist selbstverständlich, dass man im Wundeiter bei anderen specifischen Infectionsprocessen die bezüglichen Mikroorganismen findet, so den Bacillus anthracis und den Tetanusbacillus. Ausserdem sind noch eine ziemliche Anzahl anderer Erreger von Eiterungsprocessen gefunden worden, so von *Weichselbaum* der Micrococcus intracellularis meningitidis, von *Neumann* und *Schäffer* der Micrococcus meningitidis purulentae, von *Becker* der Micrococcus osteomyelitidis und von *Heydenreich* der Mikrococcus des *Pende*'schen Geschwürs (Micrococcus Biskra); bei Eiterprocessen der Thiere fand *Schütz* den Streptococcus contagiosae coryzae equorum. *Pfeiffer* fand in der Bauchhöhle eines spontan gestorbenen Meerschweinchens ein zähes eiterartiges Exsudat, das eine Reincultur des Bacillus capsulatus darstellte.

Von den von *Unna* für die Färbung der Mikroorganismen in Abscessen der Haut angegebenen Methoden (siehe pag. 63) eignen sich einige vorzüglich für die Darstellung der Mikroorganismen im Eiter. Besonders empfehlenswert ist folgendes Verfahren: Die Deckglaspräparate werden in Carmin gefärbt, kommen auf 2 Minuten in Boraxmethylenblau (Borax und Methylenblau je ein Theil auf 100 Theile Wasser), werden in Wasser abgespült und in Alkohol gebracht, dem einige Tropfen Spiritus saponis kalini zugesetzt sind, darauf nochmals in Alkohol und können dann der Untersuchung unterzogen werden.

# Bakteriologische Untersuchung der Organe und Körperhöhlen.

In diesem Abschnitt wird eine Reihe von Mikrorganismen angeführt, welche in den Organen und Körperhöhlen der lebenden Individuen einen entsprechenden Nährboden finden und theils aus der Luft, theils aus dem Wasser oder anderen umgebenden Medien stammen; sie können saprophytisch oder parasitär vorkommen.

## Mikroorganismen der Haut.

Von den auf der Haut in ihren Secreten vorkommenden Mikroorganismen sind die meisten Saprophyten; doch kommen hier auch viele pathogene Mikroorganismen vor; namentlich ist der Unternagelraum reich an Formen; nach *Preindlsberger* enthält er vor allem Keime, die auch an anderen Stellen der Hautoberfläche vorkommen, sich auch häufig in der Luft finden und daher mit ihr auch in die Respirationsorgane gelangen können; daneben aber auch pathogene Keime. Die Einwanderung von Mikroorganismen in die unverletzte Haut erfolgt wahrscheinlich durch die Mündungen der Drüsen oder vielleicht durch Stechfliegen.

Zu den Mikroorganismen der Haut gehören auch die Bakterien der weiblichen Genitalien. *Straus* und *Toledo* haben gefunden, dass im normalen Uterus weder in der Uteruswand, noch in den Uterussecreten Mikroorganismen vorkommen. Erst in der Vagina, wo sich die Epithelmassen anhäufen, finden die Bakterien einen günstigen Boden zur Entwicklung.

Im normalen Scheidensecret findet sich regelmässig der *Döderlein*'sche Scheidenbacillus. Sehr häufig begegnet man hier dem Soorpilz und Hefezellen, nicht selten auch dem Staphylococcus pyogenes albus, citreus und aureus.

Auch in den Schweissdrüsen und Talgdrüsen finden sich Mikroorganismen; so fand *Brunner*, dass bei Eiterungsprocessen sich Streptokokken im Schweisse nachweisen lassen; andererseits konnte *Garré* durch Einreiben einer Staphylokokkencultur auf seinen unverletzten Arm eine Phlegmone erzeugen. Die Erscheinung des gefärbten Schweisses wird durch den Bacillus pyo-

cyaneus und den Micrococcus haematodes veranlasst. Im stinkenden Fussschweiss fand *Rosenbach* den Bacillus saprogenes II (siehe pag. 124).

*Preindlsberger* isolierte aus dem Subungualraum den Micrococcus cereus albus und flavus, den Diplococcus liquefaciens albus und citreus, den Micrococcus candicans, die Sarcina alba und flava und weisse Hefe; von pathogenen Mikroorganismen fand er den Staphylococcus pyogenes aureus und den Streptococcus pyogenes.

Zur Färbung der Mikroorganismen in der Haut müssen die Untersuchungsobjecte in Alkohol und Aether entfettet werden. Man färbt sie in Glycerinmethylenblau, indem man sie mittelst Nadeln auf den Objectträger ausbreitet und durch einige Minuten den Farbstoff einwirken lässt. Die Mikroorganismen erscheinen blau, die Epidermis ungefärbt. Nach *Böck* werden die entfetteten Epidermisschuppen für eine halbe bis einige Minuten in Boraxmethylenblau, dann für $^1/_2$—1 Minute in eine schwache wässerige Resorcinlösung und für einige Minuten bis eine Stunde in Alkohol gebracht. Um die Pilze klar hervortreten zu lassen, wird die Epidermis durch einige Secunden in einer schwachen Lösung von Wasserstoffsuperoxyd entfärbt und dann in Alkohol, Xylol und Canadabalsam gebracht.

Um in Epidermisschuppen rasch Pilze nachzuweisen, gibt *Unna* folgende Methode an. Die betreffende Hornschuppe (Kruste, Comedo) liegt auf einem Objectträger und wird mit einem Tropfen Essigsäure befeuchtet und mittelst eines kreuzweise über den Objectträger gelegten zweiten Objectträgers zu einem Brei zerrieben; die beiden Objectträger werden nun von einander abgehoben und rasch über der Flamme getrocknet, wobei der Essig wieder vollständig verdunstet. Man giesst nun auf das oben freie Ende der Objectträger einige Tropfen Aetheralkohol und spült so das Fett ab. Dann tropft man sofort zwei Tropfen einer Boraxmethylenblaulösung auf den einen Objectträger, deckt ihn wieder kreuzweise mit dem anderen und hält beide durch 10—20 Secunden über die Flamme. Die Präparate werden nun entweder gleich weiter entfärbt oder über der Flamme getrocknet. Als Entfärbungsmittel benützt man Styron, Glycol oder Glycerinäther. Bei der Styronmethode werden die in Boraxmethylenblaulösung gefärbten Präparate mit Alkohol abgespült, in Styron durch 2 Minuten entfärbt, in Xylol abgespült und in Balsam eingeschlossen. Bei der Glycolmethode werden die gefärbten Präparate in Wasser abgespült, in Glycol durch 2 bis 5 Minuten entfärbt, in Wasser und dann in Alkohol abgespült, über der Flamme getrocknet und in Balsam conserviert. Zur Entfärbung können auch 1procentiger Essig, 1procentige Oxalsäure, 1procentige Citronensäure, 1procentige Arsensäure, 1procentiges Hydroxylamin, 1procentige wässerige Seifenlösung, 1procentige Kochsalzlösung, 5procentige wässerige Resorcinlösung und 1procentige spirituöse Hydrochinonlösung verwendet werden.

## Diplococcus subflavus.

*Bumm* fand im Vaginalsecret sehr häufig Diplokokken, deren Gestalt Gonokokken sehr ähnlich ist. Sie gedeihen auf unserem Nähr-

boden ziemlich gut, aber langsam. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Auf der Gelatineplatte treten erst nach einer Woche schwefelgelbe, punktförmige Colonien auf, deren Rand bei schwacher Vergrösserung faserig erscheint. Die Stichcultur zeigt nach 3 Tagen einen gelblichen, matt erhabenen Belag, der sich allmälig ausbreitet. Der Impfstich zeigt kein Wachsthum. Auf Agar entwickelt sich schon nach 24 Stunden ein grauweisser, erhabener Belag, der sich nach einigen Tagen gelb färbt. Auf Kartoffeln entsteht ein glatter, kugeliger, scharf begrenzter Belag, der an der Nadel anklebt und stark fadenziehend ist. Blutserum wird verflüssigt.

Von diesen biologischen Eigenschaften abgesehen, lässt sich der Diplococcus subflavus auch dadurch vom Gonococcus unterscheiden, dass er bei Anwendung des *Gram*'schen Verfahrens den Farbstoff nicht abgibt.

## Micrococcus lacteus faviformis.

Sehr häufig fand *Bumm* im Vaginalsecret Diplokokken, die eine zitternde Bewegung besitzen. Im hängenden Tropfen untersucht, zeigen sie die Neigung, einen Haufen zusammenzusetzen, der die Figur einer Honigwabe bildet. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Gelatineplatte sind die Colonien klein und regelmässig rund. In der Stichcultur bilden sich schon nach einem Tage kleine weisse Punkte, die sich später zu milchweissen Inseln vereinigen. Auch auf Agar und auf Kartoffeln entwickelt sich ein milchweisser Belag. Die Diplokokken geben bei der Anwendung der *Gram*'schen Methode den Farbstoff nicht ab.

## Diplococcus albicans amplus.

Ein nicht seltener Gast im Vaginalsecret ist der von *Bumm* gefundene Diplococcus albicans amplus, dessen Elemente sich von den übrigen Diplokokken durch eine ziemliche Grösse auszeichnen. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Die Gelatineplatte zeigt grauweisse, etwas erhabene Inseln. In der Stichcultur tritt an der Oberfläche ein feuchter Belag und längs des Impfstiches ein weisser Streifen auf. Auf Agar entwickelt sich bei 35° C. rasch eine graue, streifenförmige Auflagerung.

## Diplococcus albicans tardus.

Bei Eczemen fanden *Unna* und *Tommasoli* den Diplococcus albicans tardus. Die Diplokokken sind unbeweglich, zuweilen in Haufen und Ketten geordnet, und verflüssigen die Gelatine nicht. Auf der Platte entstehen rundliche Colonien, die bei der mikroskopischen Untersuchung eine unebene, buckelige Oberfläche aufweisen. Die Colonien wurden allmälig graugelb, in der Mitte und am Rande heller, so dass die Colonien von einer hellen Zone umfasst erscheinen. Die Stichcultur zeigt an der Oberfläche einen gelben Ueberzug, die Strichcultur auf Agar einen graugelben Streifen mit unregelmässigen Rändern.

## Diplococcus citreus liquefaciens.

Bei Eczemen fanden *Unna* und *Tommasoli* unbewegliche Kokken, deren Wachsthum die Gelatine verflüssigt. Auf der Platte entwickeln sich weissliche Pünktchen, welche sehr bald verflüssigt sind und sich citronengelb färben. Die Stichcultur zeigt anfangs einen gelblichen Belag; nach einigen Wochen sieht man in der verflüssigten Gelatine einen Theil der Cultur citronengelb schwimmen, der andere gelblich gefärbte Theil befindet sich in der Tiefe. Die citronengelbe Farbe an der Oberfläche der verflüssigten Masse ist besonders charakteristisch. Auf Agar, ebenso wie auf Kartoffeln bildet sich ein gelblicher Belag.

## Diplococcus flavus liquefaciens tardus.

Neben dem beschriebenen Mikroorganismus fanden *Unna* und *Tommasoli* bei Eczemen semmelförmige Diplokokken, welche die Gelatine ziemlich langsam verflüssigen. Auf der Platte entstehen punktförmige, braungelbe Colonien; auf der Oberfläche der verflüssigten Gelatine schwimmen gelbliche Massen. Auch bei der Stichcultur fällt die äusserst langsame Verflüssigung auf, so dass nach zwei Monaten erst ein halber Cubikcentimeter der Gelatine verflüssigt ist. Auf Agar entwickelt sich ein schleimartig dicker Ueberzug von grüngelber Farbe, auf Kartoffeln ein buckeliger, schwefelgelber Belag.

## Micrococcus haematodes.

*Babès* isolierte aus dem übelriechenden Achselschweiss, der auf der Wäsche einen rothen Fleck erzeugt, einen Mikrococcus, dessen Elemente kreisrund oder oval sind und durch eine durchscheinende. gallertige, rothe Masse mit einander verbunden sind. *Babès* züchtete sie auf geronnenem Hühnereiweiss bei Bruttemperatur; sie bilden auf diesem Nährboden blutrothe, zusammenfliessende Inseln.

## Trachomcoccus.

*Sattler* und *Michel* halten für die Ursache der als Trachom (ägyptische Augenentzündung) bekannten Erkrankung der Conjunctiva und Cornea einen Diplococcus, der sich vom Gonococcus durch seine Kleinheit und die schwache Ausbildung seiner Theilungsmarke unterscheidet. Er gibt bei der *Gram*'schen Methode seinen Farbstoff nicht ab. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte entwickeln sich weisse Wölkchen; in der Stichcultur entstehen längs des Impfstiches perlenartig angereihte Kügelchen und auf der Oberfläche eine glänzende, weisse, später gelblich werdende Auflagerung. Auf Agar entwickelt sich ein grauer Ueberzug, auf Blutserum ein bandförmiger, weisser Streifen. Uebertragungsversuche auf die menschliche Conjunctiva erzeugen ein typisches Trachom.

## Diplococcus des Pemphigus acutus.

*Demme* fand in den Pemphigusblasen Kokken, die zu zweien angeordnet in dichten Haufen beisammen liegen. Es scheinen dies pathogene Mikroorganismen zu sein, da durch Uebertragung der Reinculturen auf Meerschweinchen entzündliche Herde in den Lungen mit Abmagerung entstehen; eine Injection der Reincultur in's Blut bewirkt ähnliche Erscheinungen. Der Diplococcus gedeiht nur bei Bruttemperatur und lässt sich am besten auf Agar züchten: auf der Platte entstehen runde, milchweisse Colonien, die seitliche Ausläufer nach der Oberfläche und in radiärer Richtung aussenden; die Inseln besitzen deshalb unregelmässige Hervorragungen; das Bild einer Strichcultur auf Agar ist ganz ähnlich. Auf Blutserum und Kartoffeln ist das Wachsthum sehr langsam.

## Scheidenbacillus.

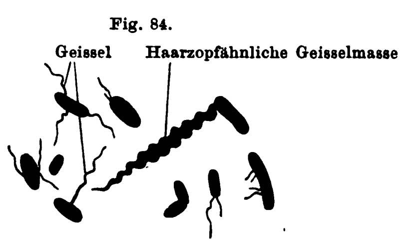
*Döderlein* traf regelmässig im normalen Vaginalsecret des Erwachsenen schlanke Stäbchen ohne Eigenbewegung. Das Secret der Neugeborenen ist bacillenfrei. Die Scheidenbacillen sind facultativ anaërob und gedeihen sogar bei Abschluss des Sauerstoffes besser. Da ihr Wachsthum nur bei Körpertemperatur vor sich geht, so ist ihre Züchtung auf Gelatine unzweckmässig. Auf Agar entwickelt sich ein äusserst zarter Belag, der aus sehr feinen, wasserhellen Tröpfchen besteht. Die Cultur ist gegen Trockenheit und Temperaturgrade, die niedriger sind als die Körpertemperatur, sehr empfindlich. Im Brutofen entwickelt sich der Belag zu etwas flachen Erhebungen, die stets klar und durchsichtig bleiben. Die Züchtung gelingt auch in Bouillon, in Milch und auf Blutserum. Auf Kartoffeln erfolgt kein Wachsthum. Die Bacillen sind energische Säurebildner; der Säuregehalt in der Scheide (0·5 Procent) wird durch ihre Lebensthätigkeit veranlasst. Das bacillenfreie Secret der Neugeborenen reagiert neutral.

## Bacillus des Rauschbrandes.

Bei Rindern und Lämmern tritt der Rauschbrand als eine Krankheit auf, die in zwei Tagen zum Tode führt. Als Ursache dieser Erkrankung wurden von *Bollinger, Thomas, Kitasato, Kitt* etc. im serös-blutigen Safte des Unterhautzellgewebes Bacillen vorgefunden, die kokkenförmig oder trommelschlegelähnlich gebaut sind, Eigenbewegung besitzen und zu den Anaëroben gehören. Die Eigenbewegung wird durch zahlreiche Geisselfäden bedingt. Bei der Anwendung der *Gram*'schen Methode verlieren die Bacillen ihre Farbe. Das Wachsthum der Rauschbrandbacillen verflüssigt die Gelatine. Auf der Platte erscheinen warzige, unregelmässige Inseln. In hohen Culturen entwickeln sie sich längs des Stichcanales unter Gasbildung. Die Inseln erscheinen als kugelige, mit Flüssigkeit erfüllte Hohlräume, von denen weissliche Fäden in die Gelatine hineinragen. Auf Agar zeigt sich bei Bruttemperatur eine lebhafte Gasbildung. Im Blutserum entstehen eigenthümliche, spiralig gedrehte, haar-

zopfähnliche Gebilde von der verschiedensten Grösse; sie bestehen nach *Löffler* aus zusammengedrehten, abgerissenen Geisseln (Fig. 84). Die Kartoffeloberfläche wird feuchtglänzend in Folge eines dicken, weichen Belages, der sich leicht ablösen lässt. Bouillonculturen riechen nach ranziger Butter, ebenso auch Agarculturen.

Fig. 84.




*Rauschbrandbacillen aus der Blutserumcultur. 1100mal vergrössert (nach Löffler).*

Die Uebertragungen auf Schafe, Rinder und Ziegen sind von Erfolg begleitet; Tauben und Mäuse sind fast immun. Die Infection kann wegen der anaëroben Eigenschaften nur subcutan vorgenommen werden. Die Virulenz bleibt in den Culturen von festem Nährboden länger erhalten als in flüssigen Nährmaterialien.

## Leprabacillus.

In den leprösen Geweben, namentlich in den Gewebszellen (Leprazellen) fand *Hansen* kleine, schlanke Stäbchen, die am Ende keulenförmig sind und den Tuberkelbacillen an Grösse gleichkommen. Sie sind unbeweglich und unterscheiden sich von den Tuberkelbacillen besonders dadurch, dass sie durch die wässerigen Anilinfarbstoffe sehr leicht gefärbt werden können. Sie färben sich ausserdem noch durch das für Tuberkelbacillen angegebene Färbungsverfahren, ebenso durch die *Gram*'sche Methode. Die Färbung erfolgt bei den Leprabacillen viel leichter als bei den Tuberkelbacillen.

Nach *Baumgarten* färbt man Deckglaspräparate durch 6 bis 7 Minuten in einer verdünnten alkoholischen Fuchsinlösung, entfärbt in einer Mischung aus 1 Theil Salpetersäure und 10 Theilen Alkohol, spült in Wasser ab und färbt in einer wässerigen Methylenblaulösung nach.

Nach *Lustgarten* entfärbt man die in Anilinwasserfuchsin oder Anilinwassergentianaviolett gefärbten Deckglaspräparate in 1procentigem unterchlorigsaurem Natron und spült in Wasser ab.

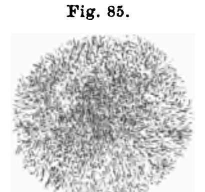
Nach *Unna* werden die Schnitte durch 12—24 Stunden in Anilinwasserfuchsin gefärbt und in einer 10—20procentigen wässerigen Salpetersäure so lange entfärbt, bis das Präparat eine gelbe Farbe angenommen hat. Dann werden sie in verdünnten Alkohol gebracht und so lange darin belassen, bis die Farbe roth geworden ist. Durch Eintauchen in eine schwache wässerige Ammoniaklösung wird die noch vorhandene Säure entfernt und das Wasser durch Fliesspapier abgesaugt. Darauf werden sie in chloroform- und ölfreiem Balsam eingeschlossen.

Die *Lutz-Unna*'sche Methode besteht darin, dass die Präparate in erwärmtem Anilinwassergentianaviolett so lange gefärbt werden, bis sie dunkelviolett geworden sind. Darauf werden sie zur Entfärbung nach einander in Jodjodkaliumlösung, in salpetersauren Alkohol und in reinen Alkohol gebracht. Dieses Verfahren muss so lange wiederholt werden, bis die Präparate bläulich schiefergrau werden. Die Conservierung erfolgt in Thymen- oder Nelkenölbalsam.

Die Züchtung der Bacillen gelang *Bordoni-Uffreduzzi* auf Peptonglycerinblutserum, das mit dem Knochenmark eines an Lepra verstorbenen Menschen geimpft wurde. Von hier aus konnten dann Uebertragungen auf Gelatine vorgenommen werden; sie bilden bei 20—25° C. auf Gelatine rundliche Colonien, ohne die Gelatine zu verflüssigen (Fig. 85). Auf Agar zeigt die Strichcultur ebenfalls rundliche Colonien, die in der Mitte vorragen. Auf Blutserum sind die Colonien bandartig und mit zackigen Rändern versehen und verflüssigen das Blutserum nicht. Die Züchtungsversuche erfolgen am besten bei 37° C.

Lepra kann auch auf Menschen und Thiere übertragen werden.

Fig. 85.



*Insel vom Leprabacillus auf der Gelatineplatte (nach Macé).*

In den Geweben finden sich die Bacillen in dem Hautbindegewebe, in den Nervenumhüllungen, in der Milz und in den Lymphdrüsen; im Blute fehlen sie.

Nach *Unna* finden sie sich in den Lymphgängen der Gewebe; er hält auch die Leprazellen für Lymphgefässquerschnitte.

Die anderen Färbungsmethoden der Mikroorganismen der Oberhaut, die auch für Abscesse in der Haut angewendet werden können, sind bereits im allgemeinen Theile angeführt worden und mögen dort (pag. 63) nachgesehen werden.

## Bacillus sycosiferus foetidus.

*Tommasoli* fand an den Barthaaren eines an Sykosis Erkrankten den Bacillus sycosiferus foetidus. Seine Stäbchen sind kurz, mit abgerundeten Ecken und unbeweglich. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Das Wachsthum geht bei Zimmertemperatur langsam vor sich. Auf der Platte entstehen weisse, punktförmige Colonien, die sich allmälig schleimig-schleierartig ausbreiten. In der Stichcultur zeigt sich ein weisser Nagelkopf. In der Strichcultur auf Agar entwickelt sich ebenfalls ein grauweisslicher, schleierartiger Belag, der aus dem Verschmelzen einzelner isolierter Flecken entsteht und häufig wellenförmige Streifen zeigt. Auf Kartoffeln sind die Colonien erhaben und fliessen unter Bildung einer gelblich-

weissen Farbe zusammen. Die Reinculturen verschafft man sich bei einer bacillogenen Sykosis von den ausgerissenen Haaren oder von dem Eiter. Wenn man etwas von den Reinculturen auf der Haut verreibt, so entsteht Röthung, heftiges Jucken und Bläschenbildung in der Nähe der Haare.

## Ascobacillus citreus.

Bei Eczemen in der Haut fanden *Unna* und *Tommasoli* den Ascobacillus citreus; es sind bewegliche Stäbchen, deren Vermehrung die Gelatine nur langsam verflüssigt. Auf der Platte entstehen dunkle Colonien; bei der Stichcultur zeigt sich ein citronengelber Belag, der nach einigen Wochen auf der verflüssigten Gelatine schwimmt, während sich in der Tiefe einige grünliche Flocken zeigen. Auf Agar entwickelt sich ein gelblicher, aus mehreren, kugeligen Colonien durch Zusammenfliessen entstehender Belag. Auf Kartoffeln ist das Wachsthum rascher; nach ungefähr zwei Wochen zeigt der gelbe Belag im Centrum eine grüngelbe Farbe mit feinen, helleren Aederchen, so dass das Ganze einem Weinblatt ähnlich wird.

## Bacillus xerosis.

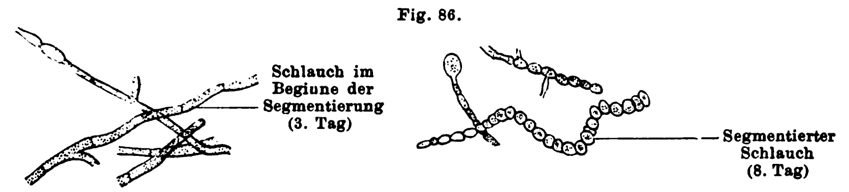
*E. Fränkel, Leber, Neisser, Colomiatti* und mehrere Andere fanden bei Xerosis conjunctivae kurze Bacillen ohne Eigenbewegung, die auf Gelatine und auf Kartoffeln nicht gedeihen. Auf Agar entwickelt sich bei Bruttemperatur ein schleierartiger Belag; auf Blutserum entsteht ein Herd von rosettenartiger Gestalt. Die Bacillen finden sich in den weissen, fettartigen Schüppchen auf der Conjunctiva; die Schüppchen bestehen aus verhornten und fettig degenerierten Epithelzellen, freien Fetttropfen und den kurzen Bacillen.

## Trichophyton tonsurans.

*Malmsten* und *Gruby* fanden in den schuppigen Auflagerungen bei Herpes tonsurans einen Pilz, der als Trichophyton tonsurans bezeichnet wird. *Leslie Roberts* züchtete ihn auf zuckerhaltigem Malzaufguss und auf alkalischer Rindfleischbouillon; die an Herpes erkrankte Hautstelle wurde mit Sublimat gereinigt, dann wurden mit einer sterilisierten Pincette mehrere kurze Haarstümpfe ausgezogen und die kolbigen Enden mit einer ausgeglühten Schere derart abgeschnitten, dass sie direct in eine entsprechende Anzahl der mit Malzaufguss oder Bouillon beschickten Kochkolben hineinfielen. Schon nach 24 Stunden strahlen von den gelben Haarkolben farblose Fäden nach allen Seiten aus und wachsen zu einem farblosen Mycelbüschel zusammen. Wenn sie sich bis an die Oberfläche erheben, so bedeckt sich der dem Einfluss der Luft ausgesetzte Theil sehr schnell mit einem schneeweissen Pulver, das der von oben gesehenen Oberfläche Aehnlichkeit mit einer Membran verleiht und allmälig gelb wird. Schon in den ersten Entwicklungsstadien

treten an den Schläuchen des Mycels ampullenartige Erweiterungen auf, die mit einer körnigen Masse gefüllt sind und als Sporen des Myceliums aufgefasst werden. Die Schläuche vergrössern und segmentieren sich, wodurch eine deutliche Aehnlichkeit mit der Perlenschnur entsteht. Das Mycel wird nun allmälig feiner, die Abtheilungen sind klein und zeigen abgeplattete Wände mit Ausbuchtungen. *Verujski* hat experimentell erwiesen, dass Glykose das für den Trichophyton geeignete Nährmittel ist und nicht, wie *Grawitz* annahm, ein stickstoffhaltiger Körper. Deshalb entwickelt sich der Tonsuranspilz im Epithel der Körperhaut nicht durch Sporen weiter, sondern nur durch Schwellung, Einschnürung und schliesslich Ablösung von Fäden fort (Fig. 86). Nach *H. v. Hebra* ist er auch der Erreger der Impetigo contagiosa, eines durch Eiterpusteln charakterisierten Exanthems, sowie des Eczema marginatum.

Fig. 86.




*Mycelschläuche des Trichophyton tonsurans aus einer Reincultur auf Malzaufguss (nach Leslie Roberts).*

Die Gelatine wird nach *Grawitz* schnell und energisch verflüssigt, auf der Oberfläche schwimmt der Pilzrasen als eine dicke, oben weisse, unten gelbe Decke.

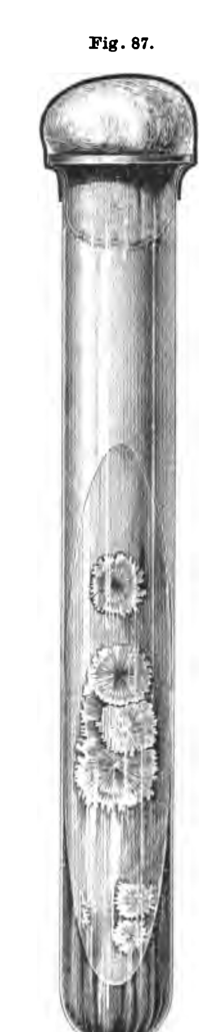
## Favuspilz.

In den schuppigen Auflagerungen von an Favus Erkrankten entdeckte *Schönlein* einen Pilz, der Achorion Schoenleinii genannt wird. Die Favusborken (Scutula) stellen das Mycel des Pilzes dar, das sich dadurch auszeichnet, dass die Pilzfäden senkrecht aus der Hornschichte emporwachsen. Der rechte Winkel, den Pilzfäden und Substrat mit einander bilden, ist charakteristisch für die Scutula des Favus, da in den pilzdurchwachsenen Hornschuppen der Pityriasis versicolor und des Trichophyton die Pilzfäden mit den Zellen der Hornschichte spitze Winkel beschreiben oder parallel laufen.

*Unna* unterscheidet drei Arten Favusarten, das Achorion euthythrix mit gerade verlaufenden Pilzfäden und reichlicher Sporenbildung, das Achorion dikroon mit gabelig getheilten Hyphen und das Achorion atakton mit unregelmässig verlaufenden Hyphen, die eigenthümlich knorrige Verzweigungen und viele scharfe Ecken besitzen. Das erste erzeugt voluminöse, graugelbe Scutula (Favus griseus), das zweite schwefelgelbe Scutula, die sich langsam entwickeln (Favus sulfureus tardus) und das dritte schwefelgelbe Scutula, die sich schneller bilden (Favus sulfureus celereus). Zur Cultur benützte *Unna* einen Nährboden, der aus 4 Procent Agar, 1 Procent Pepton, 5 Procent Laevulose oder

$^1/_2$ Procent Kochsalz besteht. Um Reinculturen zu erhalten, dürfen nur trockene Nährböden verwendet werden, die also längere Zeit vor dem Gebrauche in der Wärme aufbewahrt sind. Die übrigen Mikroorganismen, welche die Reincultur des Favus stören könnten, bedürfen nämlich einer ziemlich grossen Wassermenge und stellen auf sehr trockenem Boden ihr Wachsthum bald ein. Das Achorion euthythrix bildet dickwollige, $^1/_2$ Cm. hohe, weisse Rasen auf dem Nährboden und wächst nur wenig in den Nährboden hinein; die Cultur des Achorion dikroon liegt zum grössten Theile im Nährboden und ragt nur mit einer dünnen Myceldecke über ihn hervor. Das Achorion atakton nimmt zwischen beiden eine Mittelstellung ein. Jene Favusarten, die sich auf künstlichem Nährboden durch ihr Tiefenwachsthum auszeichnen, wachsen auch in die Haarbälge hinein und sind schwerer zu behandeln.

Fig. 87.



*Neun Tage alte Strichcultur des Favuspilzes auf Rinderblutserum (nach Plaut).*

Die Gelatine wird durch das Wachsthum der Favuspilze sehr spät und nur sehr wenig verflüssigt. Auf Agarplatten entwickeln sich nach *Plaut* bei Bruttemperatur nach 24 Stunden sehr kleine, glänzende, wattaähnliche Fäden, die sich bei der mikroskopischen Untersuchung als Häufchen von Conidien erweisen. Nach 48 Stunden sind die Colonien zu runden, milchweissen, undurchsichtigen Scheiben geworden, die einen Saum von sehr feinen, ganz kurzen Fäden besitzen. Auf Kartoffeln erhielt *Plaut* bei Bruttemperatur an den Impfstellen eine unregelmässige Verfärbung, von der der Pilz in die Tiefe der Kartoffel wuchert. Auf gekochtem Eiweiss entstehen ähnliche Rasen wie auf Kartoffeln. Auf Blutserum entwickelt sich unter der Oberfläche ein grauweisser, dünner, zusammenhängender Belag, der nach unten und parallel der Oberfläche lange, dünne Ausläufer aussendet; das Blutserum wird weder verflüssigt noch verfärbt (Fig. 87).

# Mikroorganismen der Mundhöhle.

In der Mundhöhle finden sich eine Menge von Mikroorganismen, welche aus der Luft und mit den Nahrungsmitteln in die Verdauungswege gelangen. Ihr Vorkommen in der Mundhöhle ist so constant, dass man bei jeder Speicheluntersuchung verschiedenen Kokken, Bacillen, Spirillen und Pilzen in grosser Zahl begegnet. Wenn man Speichel auf einem Deckgläschen frei vertheilt, eintrocknen lässt, in der Flamme fixiert und in einer verdünnten alkoholischen Anilinfarblösung färbt, so findet man Mikroorganismen, die theils zu den Mundpilzen gehören, deren Eigenschaften wir durch die Züchtung kennen; eine grosse Anzahl hat sich aber bisher auf unseren Nährsubstanzen nicht zur Entwicklung bringen lassen. Bei der Erhaltung der Bakterien in der Mundhöhle spielen neben dem Speichel auch die in der Mundhöhle und besonders zwischen den Zähnen zurückbleibenden Speisetheilchen eine wichtige Rolle; dazu kommen die Veränderungen an den Zähnen und am Zahnfleische, welche die Entwicklung der Mikroorganismen befördern. Die Bedeutung des Speichels für das Leben der Mikroorganismen liegt darin, dass der Speichel gewöhnlich alkalisch reagiert; wenn eine saure Reaction des Speichels eintritt, so wird zwar die Fähigkeit des Speichels, den Mikroorganismen als günstiger Nährboden zu dienen, abgeschwächt, aber dadurch werden anderseits die Zähne so verändert, dass sie einen geeigneten Nährboden für Mikroorganismen darstellen *(Miller)*.

Setzt man zu einer Probe frischen Speichels Jodjodkaliumlösung zu, so sieht man viele Fäden, welche gelb gefärbt und unter einander verschlungen sind; man bezeichnet sie als Leptothrix buccalis; andere färben sich mit Jodtinctur bläulichviolett, erscheinen in Büscheln und werden Bacillus buccalis maximus genannt (Fig. 88). Mikrokokken, welche bei Zusatz von Jodtinctur blauviolett erscheinen, führen die Bezeichnung Jodococcus, unter denen *Miller* durch die Züchtung einen Jodococcus magnus und einen Jodococcus parvus unterscheidet; zuweilen werden die Kokken durch Jodtinctur blau und ihre Scheide gelblich gefärbt (Jodococcus vaginatus). Einige Mikrokokken werden durch Jod rosaroth gefärbt. Die Infectionen der Zähne, welche zu Zahncaries führen, sollen nach *Miller* dadurch zu Stande kommen, dass der Schmelz in sauren Lösungen

seinen Kalkgehalt verliert und erweicht; die erweichte Substanz bildet dann die leimgebende Grundsubstanz, welche ebenso wie die

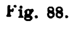




Fig. 88.

*Leptothrix buccalis (nach Jaksch).*

Gelatine durch den Einfluss von Mikroorganismen verändert wird und eine Zerstörung des Zahnes herbeiführt, welche die Caries einleitet.

## Micrococcus salivarius septicus und Bacillus salivarius septicus.

*Biondi* fand beide Mikroorganismen im Speichel, den Bacillus sowohl bei gesunden als bei kranken Individuen, den Micrococcus bei puerperaler Septikämie.

Der Micrococcus salivarius septicus besteht aus runden, zuweilen ovalen Kokken, deren Wachsthum die Gelatine nicht verflüssigt. Auf der Platte bilden sich runde Colonien, die dunkel werden; in der Stichcultur ist das Wachsthum körnig, indem die punktförmigen Colonien sich an einander lagern. Auf Agar entwickelt sich ein reichliches Oberflächenwachsthum.

Der Bacillus salivarius septicus zeigt kurze Stäbchen mit zugespitzten Enden, welche bald in Ketten, bald in Haufen liegen; er wächst am besten bei Zusatz von Phosphorsäure oder Salzsäure (0·04 Procent) zum Nährboden. Die Gelatine wird nicht verflüssigt; auf der Platte entwickeln sich runde Colonien mit durchsichtiger Peripherie. Die Inseln zeigen bei starker Vergrösserung ein zickzackförmiges Netzwerk. Die Stichcultur erscheint als helles Band mit peripheren Punktierungen. Wenn von einer Gelatinecultur auf Agar übertragen wird, so entwickelt sich ein durchsichtiger Ueberzug. Beide wirken pathogen auf Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen; die Thiere gehen an Septikämie zugrunde, zuweilen schon nach 40 Stunden.

## Bacillus ulna.

*Vignal* fand in seinem Mundschleime Stäbchen mit abgerundeten Enden, bei deren Züchtung die Gelatine verflüssigt wird. Die

Colonien sind rund und erscheinen auf der Platte wie zwei concentrisch gelegene Streifen, die durch eine helle Linie getrennt sind. Im verflüssigten Theile und im Randtheile zeigen sich mehrere Zonen, deren äusserste als ein feines Fadengewirr erscheint. In der Stichcultur zeigt sich längs des Impfstiches ein Verflüssigungstrichter, an dessen Boden krümelige Zusammenballungen von Bacillen liegen. Nach einigen Tagen erscheint auf der Oberfläche eine schimmernde Membran. Am besten geht das Wachsthum bei 20 C. vor sich. Auf Agar zeigt sich bei der Bruttemperatur ein Belag in Form eines zusammenhängenden Häutchens, das sich von der Oberfläche des Nährbodens kaum abheben lässt. Bei der Bruttemperatur entwickelt sich ein Belag auf Kartoffeln. Blutserum wird verflüssigt. Der Geruch der Culturen ähnelt dem Geruche von zersetztem Eiter.

## Bacillus gingivae.

*Miller* isolierte aus dem Belage in einem unsauber gehaltenen Munde und in einer eiternden Zahnpulpa kurze, dicke Stäbchen mit abgerundeten Ecken; auf der Gelatineplatte bilden sich bei Zimmertemperatur runde Colonien, die nach 2 Tagen verflüssigen. Die Stichcultur zeigt eine trichterförmige Vertiefung. Auf Agar bildet sich ein grünweisser Belag. Injectionen in die Bauchhöhle wirken auf weisse Mäuse tödtend unter den Erscheinungen der Peritonitis. Subcutane Injectionen veranlassen Abscessbildungen.

## Bacillus diphtheriae.

*Klebs* hat als der erste auf das Vorhandensein von Bacillen bei diphtherischen Erkrankungen aufmerksam gemacht, und *Löffler* hat durch Injectionen von Reinculturen an Thieren ähnliche Erkrankungen erzeugt. Der Bacillus ist ein unbewegliches, leicht gebogenes oder gerades Stäbchen, das die Grösse eines Tuberkelbacillus besitzt, aber viel dicker ist. Nach *Löffler* wächst der Diphtheriebacillus auf einem Nährboden, der aus 3 Theilen Hammelblutserum, 1 Theil neutralisierter Kalbfleischbouillon, 1 Procent Pepton, 1 Procent Traubenzucker und $^1/_2$ Procent Kochsalz bereitet wird. Nach *Kolisko* und *Paltauf* ist auf einer zuckerhaltigen Nährbouillon das Wachsthum üppig. Auf Glycerinagar erhielt *Kitasato* eine reichliche Entwicklung. Bei allen diesen Versuchen ist zu beachten, dass 33°—37° C. das Temperaturoptimum darstellen; im allgemeinen bedürfen die Diphtheriebacillen zu ihrer Entwicklung einer Temperatur von über 20°. Selbst nach der Austrocknung behalten sie ihre Lebensfähigkeit bei; *Löffler* fand sie noch nach 101 Tagen entwicklungsfähig. Werden Diphtheriemembranen vor dem Einflusse des Lichtes geschützt und trocken erhalten, so kann man noch nach drei Monaten aus ihnen Culturen anlegen, welche ihre Virulenz beibehalten haben. Auf Gelatine bilden sich rundliche, weisse, kleine Colonien mit grobkörnigem Gefüge und unregelmässigen Rändern; die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Stichcultur lässt kleine weisse Pünktchen erkennen, und die Stäbchen nehmen öfters veränderte Formen an. Während auf Glycerinagar das Wachsthum üppig ist, ist es auf

gewöhnlichem Agar gering. Auf schwach alkalisch gemachten Kartoffeln sieht man nach 48 Stunden einen grauweisslichen Belag.

Um die Bacillen in Schnitten zu färben, benützt man am besten eine Lösung von 30 Ccm. alkoholischer Methylenblaulösung in 100 Ccm. Kalilauge von 0·0001 Procent (1 Theil Kalilauge in 10.000 Theilen Wasser). Die Färbung nimmt wenige Minuten in Anspruch; die gefärbten Schnitte werden in eine 1/2procentige Essigsäure auf einige Secunden und dann in absoluten Alkohol gelegt, dann mit Cedernöl behandelt und in Balsam conserviert.

Die gewöhnlichen Anilinfarblösungen liefern keine Resultate. Neben der *Löffler*'schen Färbung ist noch der negative Erfolg der *Gram*'schen Methode als ein Kriterium für das Vorhandensein der *Löffler*'schen Diphtheriebacillen anzusehen.

Die Empfindlichkeit verschiedener Thiere gegenüber den Infectionen mit den Reinculturen dieses Mikroorganismus ist sehr hoch. Junge Kaninchen, denen die Conjunctiva schwach verletzt und mit einer Reincultur bestrichen wird, gehen nach *Babès* bald zugrunde. Subcutane Injectionen bedingen den Tod von Meerschweinchen nach 2 Tagen; an der Impfstelle sind Bacillen aufzufinden, die übrigen Organe sind frei.

Aus den Culturen erhielt *Löffler* durch Extraction mit Glycerin und Fällung durch Alkohol eine weissliche Substanz, die in Wasser löslich ist; 1—2 Dcgrm. dieser Substanz rufen in subcutaner Injection ein hämorrhagisches Oedem und Hautnekrose hervor. Nach *Brieger* und *C. Fränkel* gehört das von den Diphtheriebacillen erzeugte Gift nicht zu den Alkaloiden, sondern zu den Toxalbuminen.

Sehr häufig findet man in den diphtheritischen Pseudomembranen viele Kokken, die früher als Erreger der Diphtherie angesehen wurden; sie sind theils Streptokokken, theils Saprophyten. Nach *Löffler* und *v. Hoffmann* finden sich in der Mund- und Rachenhöhle sehr häufig Bacillen, welche morphologisch und biologisch den Diphtheriebacillen ähnlich sind, aber keine Virulenz besitzen. Man bezeichnet sie deshalb als Pseudodiphtheriebacillen. *Roux* und *Yersin* halten sie für Diphtheriebacillen mit sehr abgeschwächter Virulenz.

## Spirillum Milleri.

*Miller* isolierte aus einem cariösen Zahne eine Bakterienart, die mit dem von *Finkler* und *Prior* beschriebenen Vibrio identisch zu sein scheint. Es sind bald mehr, bald weniger gekrümmte, gegliederte Stäbchen, deren Gestalt einem **S** oder einem **O** ähnlich ist. Die Spirillen sind unbeweglich. Auf der Gelatineplatte erscheinen zerstreut liegende Culturen, die rasch verflüssigen. Die Stichcultur zeigt keine Luftblasenform an der Oberfläche, da die Verflüssigung sehr rasch vor sich geht; bald bildet sich ein ziemlich ausgebreiteter Verflüssigungstrichter, auf dessen Boden die Bacillenmassen liegen (vergl. Fig. 51). Auf Agar bildet sich ein oberflächlicher Belag. Er scheint bei der Caries bei der Erweichung und Verflüssigung des Schmelzorganes in hervorragender Weise mitzuwirken.

## Spirochaete dentium (denticola).

Nach *Miller* findet sich in jeder Mundhöhle, besonders unter dem Zahnfleischrande, eine Spirillenart, die auch im Secret der Nasenhöhle vorkommt und sich dadurch auszeichnet, dass sie zugespitzte Enden besitzen; diese Eigenthümlichkeit kommt unter den bisher bekannten Spirillen nur bei zwei Spirillenformen vor, der Spirochaete dentium und der Recurrensspirille. Eine künstliche Züchtung ist noch nicht gelungen.

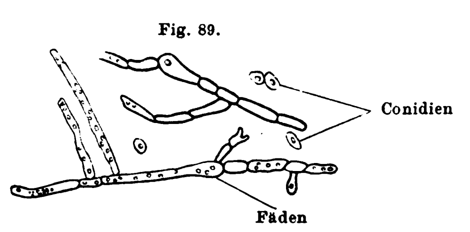
## Vibrio rugula.

*Vignal* fand in der Mundhöhle auch einen anaëroben Mikroorganismus, der sich aber nur in einem indifferenten Gase, z. B. in Wasserstoff, erhalten lässt. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich gelblichweisse, kugelige Colonien, die von der Peripherie aus verflüssigen. In den Stichculturen entstehen schon am ersten Tage an der Oberfläche kleine weisse Köpfchen; allmälig tritt eine Verflüssigung ein, an deren Grunde eine weisse Masse liegt. Auf Agar, auf Kartoffeln und auf Blutserum entwickelt sich ein weisser, gefalteter Belag. Blutserum wird rasch verflüssigt. Alle Culturen entwickeln ein Gas von höchst widerlichem, faecalartigem Geruch. Nach *Prazmowski* bildet das Spirillum rugula endständige Sporen. Sein Wachsthum erzeugt eine Gerinnung der Milch und eine sehr rasche Zersetzung von Eiweisskörpern und von Cellulose.

## Soorpilz.

Die als Soor bezeichneten Auflagerungen im Munde von Säuglingen und stark herabgekommenen Kranken sind in reinem Zustande

Fig. 89.




*Soorpilz (Monilia candida).*

weiss und geronnener Milch ähnlich; in verunreinigtem Zustande zeigen sie verschiedene Färbungen. Sie bestehen aus Fäden, Conidiensporen, aus Bakterien, Epithelzellen und weissen Blutkörperchen. Früher rechnete man den Soorpilz zu den Oidiumarten und bezeichnete ihn als Oidium albicans. Nach *Rees, Grawitz* und *Kehrer* gehört er aber zu den Hefepilzen und müsste dann als Mycoderma albicans bezeichnet werden. Nach *Plaut* ist er mit einem in der Natur sehr verbreiteten Hefepilz, der Monilia candida, identisch (Fig. 89).

Nach *Grawitz* entwickeln sich auf der Gelatineplatte schneeweisse Colonien, welche die Gelatine nicht verflüssigen; in der Stich-

cultur entstehen weisse Inseln, von denen nach allen Seiten hin Fortsätze ausstrahlen, so dass die Cultur das Aussehen einer feinen Bürste hat; in der Tiefe kommt es zur Bildung von fadenartigen Mycelien. Auf Kartoffeln erzeugt der Soorpilz einen dicken, weissen Ueberzug, der aus kettenartig aneinander gereihten Häufchen von der Grösse eines Hirsekornes bis einer Linse besteht. Nach *Klemperer* gehen Kaninchen, denen eine Reincultur in die Venen eingespritzt wurde, innerhalb 24—48 Stunden zugrunde.

### Andere Mundbakterien.

*Vignal* fand in der Mundhöhle ausserdem eine beträchtliche Reihe anderer Mikroorganismen, so den Staphylococcus pyogenes albus und aureus, den Bacillus subtilis, den Bacillus mesentericus und eine Anzahl von chromogenen Bakterien, und zwar solche mit gelbem, grünem, rothem und braunem Farbstoff. *Vignal* und *Biondi* haben auch den Diplococcus pneumoniae fast regelmässig in der Mundhöhle und im Speichel gefunden. In den weissen Pfröpfen fand *Rosenbach* den Bacillus saprogenes I (siehe pag. 125).

## Mikroorganismen der Trommelhöhle.

An die Untersuchung der Mundhöhle schliessen wir die Untersuchung der Trommelhöhle, die wir nach *Urbantschitsch* als Ausbuchtung der Mundhöhle ansehen. *Netter* fand bei Erkrankungen des Mittelohres den Streptococcus pyogenes, Staphylococcus pyogenes und den Pneumococcus; er begegnete ihnen aber nicht bloss bei Mittelohrentzündungen von Erwachsenen, sondern auch im Mittelohre neugeborener Kinder. *Gradenigo* und *Penzo* fanden sehr häufig den Micrococcus cereus albus und den Bacillus lactis aërogenes, ferner den Micrococcus subflavus, Micrococcus candicans, Micrococcus flavus tardigradus, Micrococcus ureae liquefaciens, Diplococcus lacteus faviformis, Bacillus fluorescens etc. *Gradenigo* und *Penzo* konnten also keine pathogenen Mikroorganismen in dem Mittelohre von Neugeborenen und Säuglingen normalerweise auffinden. *Kanthack* fand bei acuter Otitis media meist den Diplococcus pneumoniae und unter anderen auch den Bacillus pyocyaneus.

# Mikroorganismen des Magens.

Im Inhalte des Magens findet man nach Untersuchungen von Erbrochenem oder nach Magenausspülungen einige Mikroorganismen, welche theilweise aus der Luft stammen, durch die Athmung in die Pharynxgegend gelangen und von da aus beim Schlingacte in den Magen befördert werden; in ähnlicher Weise können auch durch das Wasser oder durch die Nahrungsmittel oder auch aus der Mundhöhle mittelst des Speichels Mikroorganismen in den Magen eingeführt werden. Die Schleimhautoberfläche des Magens, sowie der Mageninhalt bilden im allgemeinen keinen günstigen Nährboden für die verschiedenen Mikroorganismen, da die Säure des Mageninhalts auf die meisten Mikroorganismen geradezu tödtend wirkt. Andere Mikroorganismen dagegen widerstehen der Säure des Magensaftes, können auch bei geringer Sauerstoffzufuhr gedeihen, sich auf diese Weise im Magen entwickeln und längere Zeit erhalten.

*Abelous* fand gewisse Mikroben, welche normalerweise im Magen vorkommen; zu diesen Magenbakterien gehören die Sarcina ventriculi, das Bacterium lactis aërogenes, der Bacillus pyocyaneus α, der Bacillus subtilis, der Bacillus amylobacter, Bacillus megaterium, Bacillus mycoides und Vibrio rugula. Ueberdies sind von diesem Autor andere Mikroorganismen beschrieben worden, die noch nicht genau bekannt sind; diese sind vorwiegend Bacillen. Vor *Abelous* hat *de Bary* den Mageninhalt einer Untersuchung unterworfen und neben verschiedenen Bakterien das Oidium lactis und die Leptothrix buccalis aufgefunden.

In vielen Fällen kommt es vor, dass im Mageninhalt der Gehalt an Säure bis auf ein Minimum herabgesetzt ist, oder es kann die Reaction des Mageninhaltes selbst bis zur Alkalescenz verändert werden; dies macht die Bedingungen für das Gedeihen der Mikroorganismen wesentlich günstiger. Mit dem Mageninhalt können die Mikroorganismen in den Darmcanal gelangen.

Nach *Arnold* findet man bei Neugeborenen im Magen keine Mikroorganismen, dagegen lassen sie sich schon nach 24stündigem Leben nachweisen.

## Sarcina ventriculi.

Die Sarcina ventriculi wurde von *Goodsir* im Mageninhalt aufgefunden und zeigt würfelförmige Zellen, deren Kanten und Ecken abgerundet erscheinen und zu grösseren Paketen angeordnet sind (siehe Fig. 1). Auf der Gelatineplatte entwickeln

Fig. 90.




*Vier Tage alte Gelatinestichcultur der Sarcina ventriculi.*

sich nach 1—2 Tagen gelbliche, rundliche Colonien, die bei der mikroskopischen Untersuchung Diplokokken und Tetraden, aber keine Pakete zeigen; die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Stichcultur zeigt ein Wachsthum längs des Stiches und eine Emporragung auf der Oberfläche (Nagelcultur). Auf Agar entwickelt sich ein Ueberzug von gelbbrauner Farbe, der aus runden Inseln besteht.

Auf Kartoffeln entsteht eine gelbe Farbe um den Impfstich und allmälig ein warziger Belag. Auf Kartoffeln wird der Impfstich chromgelb gefärbt. Die Hülle der Sarcine in der Paketenform zeigt deutlich die Cellulosereaction, welche in einer rothen Farbe bei Anwendung von Jod und Schwefelsäure besteht. Während bei der Züchtung auf dem gewöhnlichen Nährboden die Form des Mikroorganismus geändert ist, zeigt sich bei der Züchtung auf neutralisiertem Heuinfus die Paketform erhalten, die man theils aus der Kahmhaut, theils aus den niedergeschlagenen Massen zur Ansicht bringen kann. Wenn man von einer Gelatineplatte auf das Heuinfus überimpft, so stellt sich aus den Kokken, die auf der Gelatine zu Diplokokken und Tetraden geordnet sind, die Paketform wieder her. Besser gedeiht die Sarcine auf einem Heuinfus, dem 2 Procent Rohrzucker oder Glykose zugefügt sind (Fig. 90).

Die Sarcina ventriculi nimmt Anilinfarbstoffe sehr leicht auf und gibt bei der Anwendung des *Gram*'schen Verfahrens den Farbstoff nicht ab.

Das Wachsthum der Sarcine greift die Eiweisskörper nicht an, dagegen hat sie die Fähigkeit, das Casein zu fällen und Milchzucker in Milchsäure überzuführen.

## Micrococcus tetragenus mobilis ventriculi.

*Mendoza* fand im Mageninhalte bewegliche Kokken, welche die Neigung haben, sich zu vieren anzuordnen und als Tafelkokken erscheinen. Auf der Gelatineplatte bilden sich rundliche Colonien, welche bei schwacher Vergrösserung feingekörnt erscheinen und scharf begrenzt sind. Bei der Stichcultur sieht man einen schmutzigweissen Belag. Die Culturen nehmen beim längeren Stehen eine gelblichbraune Farbe (Zuckerfarbe) an. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

## Bacterium lactis aërogenes.

Im normalen Dünndarme von jungen Thieren und von Säuglingen fand *Escherich* einen Mikroorganismus, den *Abelous* fast regelmässig auch im Magen von Erwachsenen fand. Es sind kurze Stäbchen mit abgerundeten Ecken ohne Eigenbewegung. Auf der Gelatineplatte bilden sich rundliche Colonien, welche in der Tiefe gelblich erscheinen. In der Stichcultur erfolgt das Wachsthum längs des Canales und an der Oberfläche entwickelt sich eine Vorragung (Nagelcultur). Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Agar entwickelt sich ein glänzender Belag, dessen Mitte weisser und dichter ist als die Peripherie; der Belag breitet sich sehr rasch über die Oberfläche aus und erscheint bald von Gasblasen durchsetzt. Auf Blutserum entsteht ein graulicher, feuchter Belag mit unregelmässigen Rändern, der rasch an Ausdehnung zunimmt, ohne das Serum zu verflüssigen. Auf Kartoffeln entwickelt sich ein weisser, von Gasblasen durchsetzter Ueberzug, der gelblich wird und zerfliesst. Auch auf anderen Nährböden erscheinen Gasblasen, auf Gelatine und Agar nur bei Glycerinzusatz. Auf Milch gedeiht er auch unter Sauerstoffabschluss.

Durch das Wachsthum des Bacterium lactis aërogenes wird die Milch zum Gerinnen gebracht und der Milchzucker in Milchsäure sehr rasch und sehr energisch übergeführt. Auf Eiweisskörper wirkt es nicht ein.

## Bacillus indicus.

*Koch* fand im Mageninhalt eines indischen Affen einen feinen, sehr kurzen Bacillus mit abgerundeten Ecken, der sich durch ziemlich bedeutende Beweglichkeit auszeichnet. Die Gelatine wird sehr rasch verflüssigt. Auf der Gelatineplatte bilden sich runde, gelbe Colonien mit ausgebuchteten Rändern, die an der Oberfläche grösser sind als in der Tiefe. In der Stichcultur färbt sich der obere Theil der verflüssigten Masse ziegelroth. Auf Agar bildet sich ein ziegelrother Belag mit weissen Rändern. Blutserum wird verflüssigt, bald mit, bald ohne Farbstoffbildung. Auf Kartoffeln entsteht an der Impfstelle ein ziegelrother Belag. Die Farbstoffbildung ist von Luftzutritt abhängig. Der Bacillus indicus unterscheidet sich vom Bacillus prodigiosus, dem er sonst ziemlich ähnlich ist, dadurch, dass er auf Thiere pathogen wirkt und sie unter dem Zeichen einer schweren Gastroenteritis rasch tödtet.

# Bakterien des Darmes.

Aus dem Magen gelangen mit dem Speisebrei die Mikroorganismen an die innere Oberfläche des Darmes, ein Vorgang, der nur dadurch möglich wird, dass gewisse Mikroorganismen gegenüber dem Magensaft ihre Lebensfähigkeit bewahren können, oder dass die Reaction und die Beschaffenheit des Magensaftes nicht störend auf die Mikroorganismen einwirkt. Die innere Oberfläche der Darmschleimhaut enthält sehr viele Mikroorganismen und scheint im allgemeinen den Mikroben sehr günstige Lebensbedingungen zu bieten. Sowohl der dünnflüssige als auch der feste Darminhalt zeigen die Mikroorganismen schon normaler Weise in reicher Zahl, so dass sie unter allen Körpertheilen am mikrobenreichsten sind.

Die alkalische Reaction des Darmsaftes und das lange Verweilen der Nahrungsmittel im Darmcanale sind wichtige Factoren für das Gedeihen der Mikroorganismen. *Duclaux* schrieb ihnen eine gewisse Bedeutung für die Verdauung zu, indem ihre Thätigkeit die physiologische Verdauungsfunction zu unterstützen vermag; es soll ihnen die Aufgabe zufallen, durch ihre Lebensthätigkeit eine Digestion bactérienne zu vermitteln.

Im Normalzustande liegen die Mikroben auf der inneren Oberfläche des Darmes; bei pathologischen Processen aber dringen die Parasiten zwischen die Epithelien der Zotten, von da in das Innere der Zotten und eventuell durch die Darmwand auf das Peritoneum.

Bacillenhaltige Nahrungsmittel vermehren die Anzahl der aus dem Darminhalte gewonnenen Colonien ganz bedeutend; die Einfuhr keimfreier Nahrungsmittel oder die Einfuhr von Rothwein lässt nach *Arnold* die Zahl der Keime auffallend verringert erscheinen.

Nach *Duclaux* können sich im Darme nur jene Bakterien üppig entwickeln, die kein lebhaftes Sauerstoffbedürfnis haben. *Abelous* stellt die Hypothese auf, dass der Sauerstoff, welcher zum Leben der im Darm vorkommenden Aërobien nothwendig ist, zwar mit dem Speichel in den Darm gelangen könne, dass aber die Mikroorganismen des Darmes sich dem Sauerstoffmangel anpassen können.

Die meisten der auf der Darmschleimhaut lebenden Bakterien sind Saprophyten. Die pathogenen Arten sind nur in geringer Zahl vorhanden; sie gehen öfters dadurch zugrunde, dass sie von den Saprophyten überwuchert werden; viele werden mit den Fäces abgeführt.

Nach *Nothnagel* findet sich im Darminhalte eine sehr grosse Anzahl von Hefezellen, so dass *Brefeld* den normalen Wohnort der Hefe im Dickdarm sucht.

## Micrococcus aërogenes.

*Miller* fand im Verdauungstracte grössere unbewegliche Kokken von ovaler Gestalt, die sich durch besondere Widerstandsfähigkeit gegenüber den Säuren auszeichnen und in sauren Verdauungssäften ihre Lebensfähigkeit nicht verlieren. Die Gelatine wird schwach verflüssigt. Die Colonien auf der Platte sind rund und besitzen an der Oberfläche mehrere Flecke, die bei schwacher Vergrösserung bald hell, bald dunkel erscheinen. In der Stichcultur zeigt sich das Wachsthum in Form eines Nagels von graugelber Farbe. Auf Agar entwickelt sich ein gelblichweisser Belag. Auf Kartoffeln zeigt der Belag unregelmässige Ausbuchtungen. Bei Gegenwart von Kohlenhydraten findet eine Gasentwicklung statt.

## Bacillus putrificus coli.

*Bienstock* fand im Darminhalt einen Mikroorganismus, der Eiweisskörper unter Bildung von Ammoniak zu zersetzen vermag. Diese Zersetzung findet auch bei Luftabschluss statt. Es sind kurze, bewegliche Stäbchen, deren Wachsthum die Gelatine nicht verflüssigt. Auf Agar entwickelt sich nach längerer Zeit ein gelblicher Ueberzug.

## Bacillus coprogenes foetidus.

*Schottelius* fand sehr häufig im Darme von an Rothlauf erkrankten Schweinen kurze, unbewegliche Stäbchen mit abgerundeten Ecken, die beim Rothlauf keine Rolle spielen, aber in Folge der Darmgeschwüre sehr leicht in's Blut und in die benachbarten Organe eindringen können. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. In der Gelatine entwickeln sich kleine, blassgelbe Inseln, welche zusammenfliessen und einen grauen, durchscheinenden Ueberzug bilden. Die Cultur erzeugt einen sehr unangenehmen Geruch.

## Bacterium Zopfi.

*Kurt* und *Flügge* fanden im Darm von Hühnern lebhaft bewegliche Bacillen, deren Wachsthum die Gelatine nicht verflüssigt. Auf der Platte erscheinen schon nach einem Tage mycelähnliche Fäden. Bei der Stichcultur gehen vom Impfstiche zahlreiche Fäden aus, die in radiärer Richtung ziehen, sich aber vielfach durchkreuzen. Auf Blutserum erfolgt kein Wachsthum. Am besten gedeihen sie bei einer Temperatur zwischen 20° und 30° C. Bei höheren Temperaturen ist die Lebensfähigkeit verringert.

## Bacterium aërogenes, Helicobacterium aërogenes und Bacillus aërogenes.

Diese Mikroorganismen wurden von *Miller* im Darmtract gefunden, sind bewegliche Bacillen, deren Wachsthum die Gelatine nicht verflüssigt; sie besitzen die Eigenschaft, dass sie mässig concentrierten Säuren Widerstand leisten und daher den Magen passieren können, ohne an ihrer Lebensfähigkeit Schaden zu nehmen.

## Bacillus dysenteriae.

*Chantemesse* und *Widal* fanden im Darminhalt, in den Darmwandungen, sowie in der Milz und den Bauchganglien bei Dysenterie kurze Stäbchen mit abgerundeten Ecken und geringer Beweglichkeit. Sie nehmen Anilinfarbstoffe schlecht auf. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich anfangs kleine, helle Flecke, die eine gelbe Farbe annehmen und sich mit benachbarten Inseln vereinigen; die gelbe Farbe verschwindet nach einigen Tagen, und die Colonien werden weiss und körnig. Auf Kartoffeln entwickelt sich eine gelbe, trockene Haut.

## Bacillus der Hühnercholera.

Das Geflügeltyphoid oder die Hühnercholera ist eine unter dem Geflügel häufig vorkommende, mit Diarrhöe einhergehende Epidemie, welche von *Perroncito* zuerst genauer studiert wurde; *Pasteur* bezeichnet sie als Choléra des poules; in neuerer Zeit bemühten sich um die bakteriologische Untersuchung derselben *Marchiafava, Celli* und *Kitt.*

Man findet im Blute, in den Capillaren der verschiedensten Organe, speciell in der Milz und Leber, und besonders reichlich im Darminhalt, kurze, plumpe Stäbchen, die in der Mitte etwas eingeschnürt sind. Durch Ueberimpfung oder Verfütterung der Bacillen kann man bei Hühnern eine typische Erkrankung veranlassen; auch andere Vögel, wie Gänse und Tauben, sowie auch Mäuse und Kaninchen sind für die Infection sehr empfänglich. Meerschweinchen erweisen sich als refractär. Das Wachsthum der Bacillen verflüssigt die Gelatine nicht, die Colonien auf der Platte sind rundlich mit unebenem Rande; das Wachsthum in der Stichcultur zeigt an der Oberfläche einen zarten Belag. Auf Agar entwickelt sich ein leichter weissgrauer Ueberzug. Auf Kartoffeln entsteht erst bei Bruttemperatur ein schmutziggelblicher Rasen, auf Blutserum ein glänzender, weisslicher Belag.

Bei der Färbung der Hühnercholerabacillen ist charakteristisch, dass sich die Stäbchen mit Anilinfarbstoffen nur an den Endpolen färben, während die Mitte ungefärbt bleibt. Bei Anwendung der *Gram*'schen Methode geben sie ihre Farbe ab.

## Andere Darmbakterien.

Im Darmcanale begegnet man ausserdem dem Bacillus butyricus, der Vibrio rugula, dem Bacterium coli commune, weiters dem Cholerabacillus, dem Typhusbacillus, dem Vibrio Proteus (Bacillus Finkler-Prior), dem Bacillus neapolitanus (Bacillus Emmerich), dem Proteus vulgaris, dem Vibrio Metschnikoff und unter manchen Umständen dem Soorpilz.

# Bakteriologische Untersuchung der Faeces.

Anschliessend an den Darm sollen hier die Faeces behandelt werden, welche an Mikroorganismen sehr reich sind. Man findet bei der Untersuchung des Stuhles Bestandtheile aus der Pflanzennahrung und Reste von unverdauten Stückchen animalischer Nahrungsmittel. Besonders findet man kleinere und grössere gelblich gefärbte Stücke von quergestreiften Muskelfasern, welche die Querstreifung deutlich zeigen. Fett kommt im normalen Stuhle häufig in Form von Tröpfchen vor. Neben diesen Bestandtheilen finden sich noch Epithelzellen (meist Cylinderzellen), rothe und weisse Blutkörperchen, Detritusmassen, Beimengungen von Krystallen und unter pathologischen Verhältnissen noch andere Gebilde. Gewisse Arten von Bakterien lassen sich sowohl im Meconium bei Neugeborenen, als auch in den Stuhlentleerungen von Erwachsenen nachweisen. Nach *Nothnagel* finden sich in festen Stühlen die Mikrokokken, in flüssigen Stühlen die Bacillen in überwiegender Menge.

Bei der Untersuchung der Faeces findet man fast constant durch Jodtinctur sich blau färbende Gebilde, welche *Nothnagel* für identisch mit dem Clostridium butyricum hält. Auch andere Mikroorganismen nehmen bei Anwendung von Jodtinctur eine blaue Farbe an, so fand *v. Jaksch* in den Faeces Stäbchen, die an Leptothrix buccalis erinnern. Besonders zahlreich sind die mit Jod sich färbenden Mikroben bei Katarrhen des Darmes anzutreffen. *Fischer* gelang es, die Leptothrixfäden künstlich zu züchten. Ferner findet man in den Faeces die verschiedenen Mikroorganismen, welche im Darmtracte leben.

Bei der Untersuchung der Faeces ist es wichtig, eine kleine Menge im hängenden Tropfen zu untersuchen; hierbei findet man neben den Mikroorganismen eine reichliche Menge abgestossener Cylinderepithelzellen. Sehr häufig sieht man schon bei dieser Untersuchung, dass von der grösseren Anzahl der verschiedenen bisher beschriebenen Mikroorganismen Reinculturen vorhanden sind, indem die anderen Mikroben entweder verdrängt wurden oder in so geringer Zahl vorhanden sind, dass sie nicht berücksichtigt zu werden brauchen. So ergibt sich bei der Untersuchung der Reiswasserstühle von Cholera, dass man neben den Cylinderepithelien nur die sich lebhaft bewegenden Cholerabacillen vorfindet.

In den Faeces finden sich regelmässig Hefezellen, besonders in den sauren Stühlen der Kinder (Sommerdiarrhöe) und bei acuten Dünndarmkatarrhen Erwachsener; die Hefezellen färben sich mit Jod braun, was *v. Jaksch* mit ihrem Glycogengehalt in Verbindung bringt.

Ziemlich häufig erscheint sowohl in normalen als auch in pathologischen Stuhlentleerungen der Bacillus subtilis. Ausserdem trifft man in den Faeces bei Darmerkrankungen die entsprechenden Mikroorganismen, so die Bacillen der Cholera, des Typhus und der Tuberculose. *Netter* konnte auch den Staphylococcus pyogenes aus den Faeces isolieren.

## Bacillus subtiliformis.

*Bienstock* fand constant in den menschlichen Faeces einen Bacillus, dessen morphologische Eigenschaften denen des Bacillus subtilis sehr ähnlich sind, aber es fehlt den Stäbchen die Beweglichkeit, und sie sind stets in langen Fäden vereinigt. Auf Agar entwickelt sich ein üppiger, fettiger Ueberzug von weissgelblicher Farbe. Bei der Sporenbildung werden die Stäbchen in der Mitte spindelförmig aufgetrieben.

## Bacillus albuminis.

*Bienstock* traf in den Faeces sehr häufig einen Mikroorganismus, der die Fähigkeit besitzt, Eiweiss energisch zu zersetzen; er gab ihm deshalb den Namen Bacillus albuminis. Die Stäbchen sind ziemlich lang und auffallend beweglich; jener Theil des Stäbchens, von dem sich die Spore abschnürt, ist immer bei der Bewegung voraus. Auf Agar entwickelt sich ein weisslicher Belag mit perlmutterähnlichem Glanze.

## Bacillus cavicida.

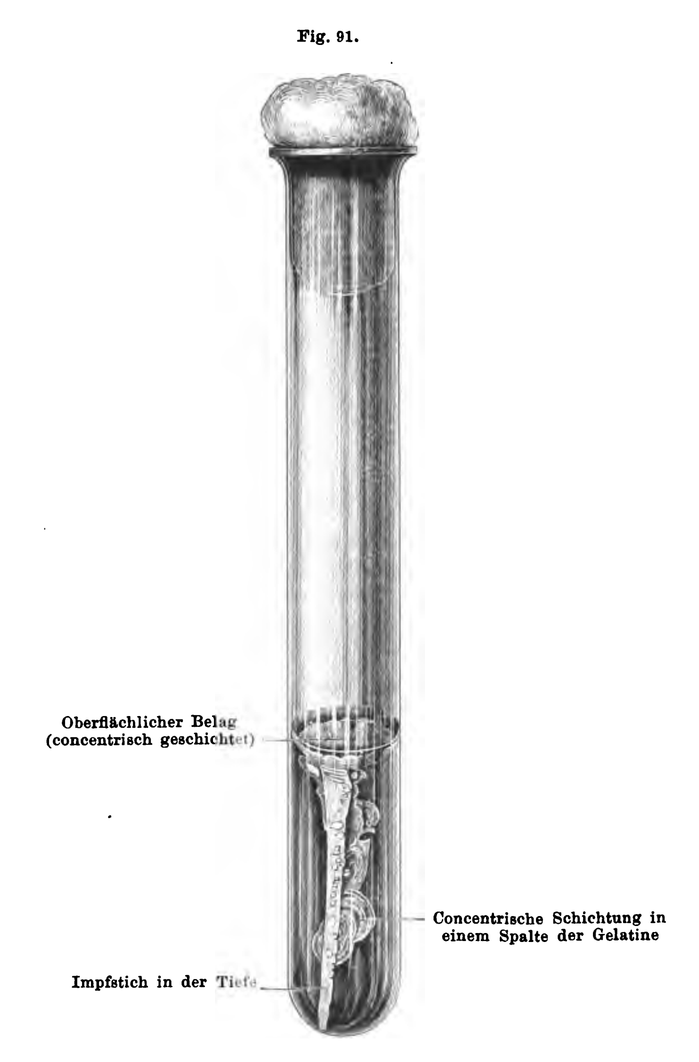
*Brieger* isolierte aus den Faeces und aus faulenden Substanzen einen Bacillus, der die Eigenschaft hat, Zuckerlösungen zu zersetzen und Propionsäure zu entwickeln. Es sind kurze Stäbchen, die doppelt so lang als breit sind. Die Gelatine wird zähflüssig. Auf der Platte entwickeln sich weisse Colonien mit schönen concentrischen Ringen, die den Schuppen auf dem Rücken einer Schildkröte ähnlich sind. Auf Kartoffeln und auf Blutserum entsteht ein schmutzig gelber Belag. Die subcutane Einspritzung wirkt auf Meerschweinchen äusserst giftig und führt oft schon innerhalb weniger Stunden zum Tode.

## Micrococcus tetragenus concentricus.

In den flüssigen Stuhlentleerungen eines an Magenerweiterung Leidenden fand ich Kokken, die gewöhnlich in Tetradenform vereinigt waren; es sind kleine, rundliche, bewegliche Elemente, die sich mit den verschiedensten Anilinfarbstoffen leicht färben. Sie ge-

deihen auf den verschiedensten Nährböden, welche gegenwärtig bei den bakteriologischen Untersuchungen gebraucht werden. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte bilden sich mehrere runde Inseln, die sich bei dichterer Aussaat mit einander vereinigen; durch Aneinanderlegung mehrerer Inseln entsteht eine grössere, rund-

Fig. 91.




*Gelatinestichcultur des Micrococcus tetragenus concentricus.*

liche, zusammengesetzte Colonie, die einem in Furchung begriffenen, holoblastischen Ei ähnlich ist. Die Stichcultur zeigt einen oberflächlichen Belag, der concentrische Ringe besitzt, welche als Tagesringe bezeichnet werden können, da zwischen Hell und Dunkel ein Wachsthumsunterschied existiert, der sich in Form von Ringen ausspricht (Fig. 91). Wird die Cultur im Dunkeln gehalten, so verschwin-

den die concentrischen Ringe des oberflächlichen Belags. Auf Agar zeigt sich ein Belag mit schnörkelähnlicher Zeichnung. Auf Kartoffeln erfolgt das Wachsthum am Impfstich (Fig. 92). Pathogene

Fig. 92.

*Kartoffelcultur des Micrococcus tetragenus concentricus.*

Eigenschaften lassen sich an ihm nicht auffinden; subcutane Impfungen auf Mäuse blieben erfolglos.

# Bakteriologische Untersuchung des Harns.

Normalerweise findet man im frisch entleerten Harne keine Mikroorganismen; die im Harn auftretenden Mikroorganismen gelangen von aussen her in den Harn oder stammen von Erkrankungen der Harnwege. Steht der Harn längere Zeit, bis die alkalische Gährung eintritt, so zeigt sich eine Menge von Sprosspilzen, Schimmelpilzen, Kokken und Bacillen, die wahrscheinlich aus der Luft in den Harn gelangen, hier einen günstigen Nährboden finden, eine Gährung des Harnzuckers veranlassen und eine Spaltung des Harnstoffes in kohlensaures Ammoniak herbeiführen; es steht eine ganze Reihe von Processen, die sich im Harn vollziehen, mit der Lebensthätigkeit der Mikroorganismen im Zusammenhange.

Es wird von verschiedenen Seiten auch eine eigene Bakteriurie *(Roberts, Schottelius, Fischer)* beschrieben. Diese scheint entweder krankhafter Natur zu sein; bei pathologischen Processen in den verschiedenen Organen, besonders aber, wenn Bakterien in's Blut gelangen, somit auch in die Blutwege der Nieren, können bei der Harnsecretion Bacillen in den Harn gelangen und mit diesem ausgeschieden werden.

*Weichselbaum* fand bei einer Endocarditis die specifischen Mikrokokken im Harne. *v. Jaksch* fand bei Erysipel zahlreiche Streptokokken, die er mit dem Streptococcus pyogenes identificierte. *Neumann* fand bei Typhus die entsprechenden Mikroorganismen im Harn: auch Rotzbacillen und Tuberkelbacillen sind im Urin nachgewiesen worden. Auch bei anderen Erkrankungen findet man im Harn die bezüglichen Mikroorganismen, so den Anthraxbacillus oder die Recurrensspirillen. Bei gonorrhoischen Processen findet man im Harn Gonokokken, bei Eiterungsprocessen Staphylokokken in beträchtlicher Anzahl. Die Tuberkelbacillen erscheinen bei ulcerierter Tuberculose der Harnwege in **S**-förmigen Gruppen (siehe Fig. 80). Für die Untersuchung des Harns auf pathogene Mikroorganismen erscheint die Centrifugierung äusserst empfehlenswert.

Die Bakteriurie kann auch dadurch veranlasst werden, dass durch die Einführung von Instrumenten in die Harnröhre Mikroorganismen eingebracht werden und eine Zersetzung des Harns innerhalb der Harnblase bedingen.

Eine Reihe von verschiedenen Mikrokokken, die man in der Luft, im Wasser und im Boden findet, kommt auch im Harn vor. Hierher gehören der Micrococcus ureae und verschiedene Sarcinaarten.

Die grössere Anzahl der im Harn vorkommenden Mikroorganismen sind Bacillen.

## Hefepilze und Schimmelpilze im Harn.

Das Auftreten grösserer Mengen von Hefepilzen weist mit grosser Wahrscheinlichkeit darauf hin, dass der Harn an Harnzucker reich ist. Auch Schimmelpilze treten nur in zuckerreichem Harn auf, und zwar nach Ablauf der alkoholischen Gährung des Harnzuckers.

## Urobakterien.

Eine Anzahl von Bakterien haben die Eigenschaft, Harnstoff in kohlensaures Ammoniak zu verwandeln.

Am häufigsten findet man in normalen Harnen während der Gährung den Micrococcus ureae *(Pasteur, van Tieghem, Leube)*, der ein regelmässiger Bewohner der Luft ist und deshalb bei der bakteriologischen Analyse der Luft seine Beschreibung gefunden hat. Er findet sich meist an der Oberfläche des gährenden Harns in länglichen Ketten (siehe Fig. 33).

*Lundstroem* fand, dass auch zwei Arten von Staphylokokken diese Eigenthümlichkeit zukomme; es sind dies der Staphylococcus ureae candidus und der Staphylococcus ureae liquefaciens. Ersterer bildet auf der Gelatine glänzende, weisse Auflagerungen, ohne sie zu verflüssigen; letzterer verflüssigt die Gelatine.

*Miquel* begegnete unter den Wasserbakterien zahlreichen Arten, welche die Eigenschaft besitzen, Harnstoff in Ammoniumcarbonat überzuführen; sie sind zum grössten Theile Bacillen, nur wenige sind Mikrokokken; unter diesen befinden sich drei Mikrokokken, welche die Gelatine verflüssigen; nach *Leube* gehört auch eine Sarcineart zu diesen Mikroorganismen.

Der von *Leube* beschriebene Micrococcus ureae liquefaciens bildet kleine Ketten und verflüssigt die Gelatine langsam.

*Leube* isolierte aus dem ammoniakalischen Harn einen Bacillus ureae, kurze, plumpe Stäbchen, deren Wachsthum die Gelatine nicht verflüssigt. Die Colonien auf der Gelatineplatte sind anfangs sehr durchsichtig. Die Vereinigung der Colonien gibt der Gelatine an der betreffenden Stelle das Aussehen einer matten Glastafel. Die Ränder sind in Folge des unregelmässigen Wachsthums zackig. Auch in der Stichcultur zeigen sich vom Stichcanale aus graue Fortsätze, welche bei Zimmertemperatur gedeihen.

Von anderen den Harnstoff zersetzenden Mikroorganismen seien noch der Urobacillus Freudenreichii und der Urobacillus Maddoxii erwähnt. Der Urobacillus Freudenreichii wächst am besten auf Gelatine bei 20° C.; er bildet an der Oberfläche eine milchweisse Auflagerung; in der Tiefe entsteht eine mit einer

trüben, fadenziehenden Flüssigkeit gefüllte Blase; die Verflüssigung der Gelatine geht langsam vor sich; der verflüssigte Theil klärt sich allmälig, und es setzt sich in der Tiefe eine weisse, schleimige Masse mit Ammoniakgeruch nieder. Fügt man zur Gelatine etwas Urin hinzu, so entsteht nach einigen Tagen um die weissen Colonien ein Kranz von sehr feinen Krystallen. Auch auf Bouillon und auf Urin gedeiht er vortrefflich.

Der Urobacillus Maddoxii macht den Urin schleimig und fadenziehend. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Bouillon wird sehr rasch getrübt. In einer mit Urin versetzten Gelatine bilden sich auch Krystalle um die Culturen.

## Micrococcus ochroleucus.

*Prove* fand im normalen Harne Kokken, welche beweglich sind; die Beweglichkeit zeigt sich besonders in den Kettenverbänden. *Legrain* traf sie auch im Eiter von Urethritis. Sie zeichnen sich durch eine endogene Sporenbildung aus, die am besten bei 36° C. vor sich geht. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Gelatineplatte zeigen sich schon nach einem Tage Colonien mit erhabenem Rande, die später gelblich werden und Ausläufer erhalten. In der Stichcultur tritt an der Oberfläche eine schwefelgelbe Farbe auf, welche in Alkohol gelöst und durch Säuren vernichtet wird. Auf Agar entwickelt sich ein schmutzigweisser, rahmartiger Belag, in dem der Impfstich als ein gelber Streifen hervortritt. Auf Kartoffeln bildet sich eine warzige Erhabenheit von gelber Farbe. Alle Culturen verbreiten einen intensiven Schwefelgeruch.

## Streptococcus giganteus urethrae.

*Lustgarten* und *Mannaberg* haben im normalen Harne und in der menschlichen Harnröhre grosse, in Reihen angeordnete Kokken gefunden, welche Wellenlinien und oft dichte Knäuel bilden. Auf Gelatine erfolgt kein Wachsthum. Auch auf Agar ist das Wachsthum langsam, am besten noch bei Bruttemperatur.

*Lustgarten* und *Mannaberg* beschrieben ausserdem als regelmässige Bewohner der Harnröhre 4 Bacillenarten und 7 Kokkenformen, unter ihnen den Staphylococcus pyogenes aureus und den Micrococcus subflavus.

## Bacterium sulfureum.

*Rosenheim* fand im Urin verschiedene Bakterien, welche im Harn Schwefelwasserstoff erzeugen und die Gelatine nicht verflüssigen.

*Holschewnikoff* isolierte aus Schlamm einen Schwefelwasserstoff erzeugenden Mikroorganismus, der sich auch im Harn, wenn auch sehr selten, vorfindet. Es sind feine Stäbchen mit abgerundeten Ecken, die langsam beweglich sind. Ihre Entwicklung bringt eine Verflüssigung der Gelatine hervor. Auf der Gelatineplatte entstehen kleine punktförmige Colonien, die bei der Verflüssigung trichterförmig

einsinken. In der Stichcultur sind die Colonien an der Oberfläche weiss, in der Tiefe rothbraun. Auf Agar entwickelt sich rasch ein schleimiggrauer Belag. Auf Kartoffeln erfolgt die Entwicklung eines Belages nur bei Luftabschluss; der Belag ist rothbraun.

## Bacillus septicus vesicae.

*Clado* fand bei Leuten mit Cystitis und Pyelonephritis unter zahlreichen anderen Mikroben einen Organismus, der bewegliche, meist isolierte Stäbchen zeigt, welche ovoide Sporen erzeugen; sie nehmen Anilinfarbstoffe leicht auf und geben sie bei der *Gram*'schen Methode nicht ab. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich punktförmige Colonien, die aber die Grösse eines Stecknadelkopfes nicht überschreiten. In der Stichcultur erscheinen die in der Tiefe liegenden Colonien grösser als die oberflächlichen; die oberflächlichen Colonien vereinigen sich zu einem zarten, opalisierenden Belag. Auf Agar entwickelt sich ein zarter Belag, und auf diesem kleine, kreisrunde, glänzende, milchweisse Colonien. Sowohl die Gelatine als der Agar werden rasch alkalisch. Besonders reichlich erfolgt die Entwicklung auf Bouillon. Auf Kartoffeln entwickelt sich ein trockener, lichtbrauner Belag.

## Urobacillus liquefaciens.

*Schnitzler* hat bei Cystitis einen Urobacillus liquefaciens gefunden, der mit dem von *Krogius* bei Cystitis und Pyelonephritis gefundenen Urobacillus liquefaciens septicus identisch zu sein scheint. Es sind kurze, an den Enden abgerundete, bewegliche Stäbchen, die bei der Anwendung des *Gram*'schen Verfahrens den Farbstoff abgeben. Die Gelatine wird rasch verflüssigt. Die Plattencultur zeigt in der Mitte der verflüssigten Colonie ein hanfkorngrosses Köpfchen mit zerfranstem Rande. Auf Agar entwickelt sich schon nach einem Tage ein dicker, grauweisser, faltenloser Ueberzug. Auf Kartoffeln entsteht ein braungelber Belag. Die Culturen entwickeln Ammoniak und riechen nach zersetztem Urin. Er scheint dem Proteus vulgaris (siehe pag. 124) nahezustehen.

Bei Cystitis wird auch sehr häufig der Staphylococcus pyogenes albus et aureus gefunden.

# Bakteriologische Untersuchung des Respirationstractes.

Die Mikroorganismen, die sich in der Umgebung der Menschen und Thiere finden, können sehr leicht durch den Luftstrom in die Athmungswege gelangen. Sie kommen zunächst in die Räume der Nasenhöhle und finden hier in dem alkalischen, dickflüssigen Schleim einen Nährboden, der für ihre Entwicklung die besten Bedingungen enthält.

## Untersuchung des Nasensecretes.

Der Nasenschleim enthält Epithelzellen, Pflaster- und Flimmerzellen, Leucocyten und schon im normalen Zustande eine ziemliche Menge von Mikroorganismen, Kokken, Bacillen und Spirillen. Unter pathologischen Verhältnissen wird der Nasenschleim dünnflüssig; man findet mehr Eiterkörperchen und bei bestimmten localen Erkrankungen die charakteristischen Mikroorganismen, welche auf die Art der Erkrankung hinweisen.

### Micrococcus cumulatus tenuis.

*v. Besser* isolierte aus dem normalen Nasenschleim grössere, unbewegliche Kokken, deren Wachsthum die Gelatine nicht verflüssigt; auf Agar zeigt sich eine Entwicklung von erhabenen Colonien, die um einen centralen Kern eine dünne Zone mit gelapptem Rande zeigen. Auf Kartoffeln ist die Entwicklung nicht günstig.

### Micrococcus tetragenus subflavus.

Der Micrococcus tetragenus subflavus zeigt unbewegliche, zu vieren angeordnete Kokken und wurde von *v. Besser* im normalen Nasenschleim gefunden. Auf Gelatine erfolgt kein Wachsthum, wohl aber auf Agar und auf Kartoffeln. Die älteren Culturen haben eine gelbbraune Farbe.

## Micrococcus nasalis.

*Hack* traf im Cavum pharyngonasale bewegliche Diplokokken an, deren Wachsthum die Gelatine nicht verflüssigt. Die Inseln auf der Gelatineplatte zeigen in der Mitte eine kleine, wellenförmige Vertiefung. Die einzelnen Colonien lassen eine radiäre Anordnung oder eine Knäuelform, öfters mit einem strahligen Rande, leicht erkennen. In der Stichcultur zeigt sich häufig am oberflächlichen Belage eine concentrische Schichtung und längs des Stichcanales die Entwicklung von Knötchen. Auf Agar und auf Kartoffeln entwickelt sich ein grauweisser, glänzender Belag.

## Diplococcus coryzae.

Der Diplococcus coryzae wurde im Schnupfensecret von *Hajek* beschrieben; es sind Kokken, die etwas in die Länge gezogen sind und als kurze Bacillen erscheinen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich flach aufliegende Colonien. In der Stichcultur entsteht eine anfangs erhabene Auflagerung, die sich immer mehr abflacht; dadurch kann man die Cultur des Diplococcus coryzae von der Cultur des *Friedländer*'schen Pneumobacillus schon makroskopisch unterscheiden, da sich bei dieser keine Veränderung der Nagelcultur zeigt. Auf Agar entsteht ein Belag. Man sah den Diplococcus coryzae anfangs als den Erreger jener Schleimhautveränderungen an, die für die Coryza charakteristisch sind. Die Thierversuche fielen aber in dieser Beziehung negativ aus.

## Staphylococcus cereus aureus.

Der Staphylococcus cereus aureus ist dem Staphylococcus cereus flavus ähnlich und unterscheidet sich von diesem nur durch die orangerothe Farbe seiner Colonien, die besonders in der Stichcultur hervortritt. Er wurde in meinem Institute von *v. Schrötter* und *F. Winkler* im dünnflüssigen Secrete des Schnupfens neben dem Staphylococcus cereus flavus gefunden (siehe Fig. 75).

## Bacillus foetidus ozaenae.

Im Secrete von Ozaenakranken fand *Hajek* kurze, lebhaft bewegliche Stäbchen, bei deren Züchtung die Gelatine verflüssigt wird. Auf der Gelatineplatte bilden sich anfangs rundliche Colonien, welche blatternarbenförmig eingezogen erscheinen, während die Verflüssigung auf der Platte beginnt. Später confluieren die Colonien und verflüssigen die ganze Gelatine. Bei der Stichcultur zeigt sich die Verflüssigung sowohl an der Oberfläche als längs des Impfstiches. Wird die Cultur bei 37° C. erhalten, so tritt ein sehr starker Fäulnisgeruch auf, während sich bei Zimmertemperatur dieser Geruch nicht zeigt. Auf Agar bildet sich ein oberflächlicher Ueberzug, der bei Bruttemperatur ebenfalls übelriechend wird. Auf Kartoffeln ent-

wickelt sich ein brauner Belag. Wenn man Thiere subcutan mit den Culturen impft, so entsteht ein heftiger Entzündungsprocess, in dessen Verlauf die Gewebe necrotisch zerfallen. Die Bacillen geben bei der Anwendung der *Gram*'schen Methode den Farbstoff vollständig ab; besonders empfiehlt *Hajek* die Färbung mit alkalischem Methylenblau, dem etwas Anilinwasser zugesetzt wurde; verdünnte alkoholische Lösungen färben die Bacillen nur sehr schwach.

### Bacillus striatus albus et flavus.

Beide Bacillen wurden von *v. Besser* im normalen Nasenschleime vorgefunden; der Bacillus striatus albus ist sehr selten. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf den verschiedenen Nährböden zeigt sich ein ziemlich gutes Wachsthum. Auf Kartoffeln entsteht ein streifenförmiger Belag. Der Bacillus striatus flavus entwickelt einen schwefelgelben Farbstoff.

### Rhinosklerombacillus.

Die Bacillen des Rhinoskleroms sind kurze, an den Enden abgerundete Stäbchen, die keine Eigenbewegung besitzen und in Kapseln eingeschlossen sind. Man findet sie im Gewebe und im Gewebssaft der Rhinoskleromgeschwülste und hält sie für die Ursache dieser Erkrankungsform. *v. Frisch, Paltauf, v. Eiselsberg, Dittrich, Cornil, Alvarez* und mehrere andere Forscher beschäftigten sich mit der Untersuchung dieser Mikroorganismen. Wenn man Schnitte aus den Rhinoskleromtumoren auf das Vorhandensein der Bacillen untersuchen will, so ist am besten, zur Färbung die *Löffler*'sche Methylenblaulösung oder Methylviolett zu verwenden. Die Schnitte bleiben 1—2 Tage in der Farblösung, werden dann mit jodhaltigem Wasser gewaschen und durch längere Zeit, durch 2—3 Tage, mittelst absoluten Alkohols entfärbt. Bei der *Gram*'schen Methode geben die Bacillen den Farbstoff nicht ab. Wenn man sie mit Anilinwasser-gentianaviolett färbt, in essigsaurem Wasser auswäscht und in Carbolfuchsin nachfärbt, so zeigen sich die Kapseln um die Bacillen gefärbt. Statt des Carbolfuchsins empfiehlt sich Safranin zur Nachfärbung. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Gelatineplatte zeigen sich rundliche Colonien. Die Stichcultur erscheint als Nagelcultur, die aber keine grosse Ausdehnung erreicht. Auf Agar entwickelt sich schon nach einem halben Tage eine ausgebreitete, milchweisse Auflagerung. Auf Kartoffeln entsteht gleichfalls eine rahmartige Masse, die sich von der Impfstelle allmälig ausbreitet. Auf Blutserum entwickelt sich auch ein weisser Belag. Bei allen diesen Züchtungsmethoden bleibt die Kapsel auch in den späteren Entwicklungsstadien erhalten. Bei der Züchtung in Bouillon gehen aber die Kapseln zugrunde. Impfungen erzeugen kein Rhinosklerom, auch nicht die Injectionen in die Nasenschleimhaut. Nach *Stepanow* entwickeln sich bei Injectionen in's Auge von Meerschweinchen Granulationswucherungen, welche reich an Bacillen sind. Injectionen in die Pleura führten bei Meerschweinchen den Tod herbei.

Der Rhinosklerombacillus erscheint jedenfalls als ein naher Verwandter des *Friedländer*'schen Pneumobacillus, ist aber weniger virulent als dieser. In morphologischer Beziehung wären als Unterscheidungsmerkmale etwa die grössere Transparenz der Gelatinecultur und die Persistenz der Kapseln auf den meisten Nährböden anzuführen.

## Bacillus capsulatus mucosus.

*Fasching* fand im Institute des Professor *Klemensiewicz* in Graz bei einer Nasenrachenaffection in den aus dem Cavum pharyngonasale entfernten Borken einen Mikroorganismus, dessen Stäbchen kurz, ziemlich dick und einzeln oder zu zweien oder zu vieren in einer gemeinschaftlichen Kapselhülle liegen. Die Bacillen geben bei Anwendung des *Gram*'schen Verfahrens die Farbe ab. Durch längeres Färben mit Fuchsin oder durch leichtes Erwärmen des mit der Farblösung beschickten Deckgläschens gelingt es sehr gut, die Kapsel als einen zart rosaroth gefärbten Hof zur Darstellung zu bringen. Den Bacillen fehlt eine Eigenbewegung. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte entwickeln sich Colonien, die das Aussehen von stecknadelkopfgrossen Schleimtröpfchen haben. In der Stichcultur entsteht eine typische Nagelcultur mit lebhafter Gasbildung. Auf Agar und auf Blutserum entwickelt sich ein dicker, rahmartiger, feuchter Belag. Auf Kartoffeln entsteht ein feuchtschleimiger, weisser Ueberzug. Subcutane Impfung erzeugt bei weissen Mäusen eine echte Septikämie. *Fasching* fand diesen Mikroorganismus auch im Sputum eines Phthisikers.

## Vibrio nasalis.

Sowohl im Nasenschleime als auch in der Mundhöhle finden sich grössere Stäbchen, die keine Eigenbewegung besitzen und zu Vibrionen angeordnet sind. *Weibel* züchtete sie rein. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Das Wachsthum auf der Gelatineplatte führt sehr langsam zur Bildung runder Inseln. Im Impfstich entwickelt sich längs des Stichcanales ein zarter, weisser Strich, der einem Schleimfaden ähnelt. Auf Agar ist die Cultur weniger durchsichtig und mehr dick; man findet in ihr Spirillen, die eine grosse Zahl von Biegungen (über 30) zeigen. Auf Kartoffeln erfolgt kein Wachsthum. Bei Anwendung der *Gram*'schen Methode geben die Spirillen ihren Farbstoff ab.

## Andere Nasenbakterien.

*Reimann* isolierte aus dem Nasenschleim eine grosse Zahl von Spirillen; unter ihnen ist auch die Spirochaete dentium häufig anzutreffen.

Bei tuberculösen Erkrankungen der Nasenhöhle finden sich im Nasenschleim die pathognomonischen Tuberkelbacillen, bei Rotzgeschwüren die Rotzbacillen; auch Soorpilze und Schimmelpilze kommen manchmal im Nasensecrete vor.

## Untersuchung der Respirationswege.

Durch die Respiration können sehr leicht aus der Luft Mikroorganismen in die Lungenwege gelangen. *Straus* und *Dubreuil* haben den Nachweis erbracht, dass die Exspirationsluft fast keimfrei ist; wenn sich Keime vorfinden, so ist das Verhältnis der Keime in der Exspirationsluft zu den Keimen in der Inspirationsluft sehr gering (1:600). Sind die Staubtheilchen in der Luft, an denen Tuberkelbacillen hängen, durch die Wasserdämpfe durchfeuchtet, dann bringen sie leichter eine Infection hervor, als wenn sie in trockenem Zustande in die Lunge gelangen (*Cadéac* und *Molet*). Da nun in den letzten Jahren eine Reihe von Mikroorganismen nachgewiesen wurde, welche Krankheitsprocesse in der Lunge erregen, so ist es sehr wichtig, die in der Lunge vorkommenden Mikroben näher zu kennen; dies geschieht am zweckmässigsten dadurch, dass man die Sputa genau untersucht; freilich finden sich im Sputum auch Beimengungen aus dem Cavum pharyngonasale, aus der Mundhöhle und aus der Nasenhöhle; es lassen sich aber alle anderen Elemente, welche aus den anderen Räumen kommen, ausschliessen und jene feststellen, die aus der Lunge stammen.

Im Sputum traf *Pansini* constant verschiedene Streptokokken an, sowohl in den Sputis Gesunder als auch Kranker; den Streptokokken kommen an Häufigkeit zunächst verschiedene Sarcinearten.

Die gelbe, röthliche und grüne Farbe des Sputums wird durch chromogene Bakterien veranlasst. Die gelbe und röthliche Farbe leitet *Pansini* von der Lebensthätigkeit des Bacillus aureus, der Sarcina lutea und Sarcina aurantiaca her. Die grüne Farbe wird vom Bacillus pyocyaneus und vom Bacillus fluorescens non liquefaciens erzeugt.

*Virchow* und *Lichtheim* fanden nicht selten Schimmelpilze in dem Sputum, unter ihnen besonders den Aspergillus fumigatus. Auch Soor und Hefezellen lassen sich manchmal antreffen. *Fasching* fand im Sputum auch seinen Bacillus capsulatus mucosus.

### Sarcina pulmonum.

Schon in früheren Jahren haben verschiedene Autoren in dem Sputum Sarcinen beschrieben, die sie für identisch mit der Sarcina ventriculi hielten. Durch die Untersuchungen von *Hauser* stellte sich aber heraus, dass man es mit einer eigenen Art zu thun habe, die sich von der Sarcina ventriculi schon durch ihre geringere Grösse unterscheidet. Man kann ihr keine pathogenen Eigenschaften zuschreiben, jedoch besitzt sie die Fähigkeit, den Harnstoff energisch zu zersetzen; diese Fähigkeit theilt sie mit einer von *Leube* im Urin aufgefundenen Sarcine. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Gelatineplatte entwickeln sich kleine weisse Colonien, die sich beim Wachsthum am Rande einbuchten und concentrisch geschichtet erscheinen. In der Stichcultur bildet sich ein oberflächlicher, feuchter Rasen. Auf Kartoffeln ist das Wachsthum sehr kümmerlich.

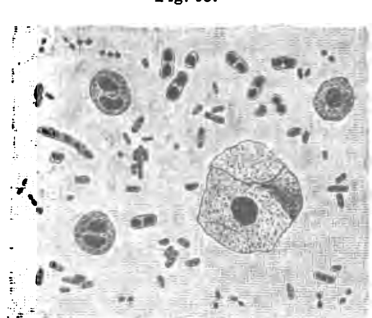
## Sarcina aurea.

*Macé* isolierte aus einem Exsudate der Lunge eines an Pneumonie mit eiteriger Pleuritis Gestorbenen eine Sarcineart, deren Elemente eine sehr lebhaft oscillierende Beweglichkeit besitzen. Einige derselben färben sich mit Jod und Schwefelsäure blauviolett; diese Reaction deutet darauf hin, dass in der Sarcine Cellulose oder Amylum vorhanden sei. Sie entwickelt einen schön goldgelben Farbstoff, der sich in absolutem Alkohol löst. Die Gelatine wird ziemlich rasch verflüssigt. In der Stichcultur entwickelt sich an der Oberfläche des Verflüssigungstrichters ein dickes, brüchiges Häutchen, das sehr leicht in einzelne Theile zerfällt. Auf Agar entsteht ein dicker Streifen mit warziger Oberfläche und goldgelb glänzender Farbe. Auf Kartoffeln entwickelt sich ein dicker, goldgelber Belag.

## Diplococcus pneumoniae.

*Klebs* und *Eberth* haben bereits in früheren Jahren darauf aufmerksam gemacht, dass bei der croupösen Pneumonie Kokken vor-

Fig. 93.



*Pneumoniemikroben (nach Jaksch).*

kommen. *A. Fränkel* und *Weichselbaum* haben sie mit Hilfe der modernen Untersuchungsmethoden studiert und constatiert, dass die Ursache der croupösen Pneumonie ein Mikrococcus sei, den *Weichselbaum* unter 100 Fällen 91 mal antraf.

Die Kokken sind rund, zuweilen länglich und besitzen eine verschieden dicke Gallerthülle. Sie findet sich sehr häufig zu zweien geordnet, nicht selten erscheinen mehrere solcher Diplokokken in Reihen hintereinander in einer gemeinschaftlichen Kapsel eingeschlossen. Eigenbewegung fehlt ihnen (Fig. 93).

Diese Kokken kommen nicht blos im Sputum der croupösen Pneumonie und in der erkrankten Lunge, sondern auch im Blute und bei verschiedenen anderen Erkrankungen vor. Man findet sie nach *Weichselbaum* in Exsudaten in der Paukenhöhle und im Siebbeinlabyrinth. Nach *Foà* und *Bordoni* sind sie die ausschliesslichen Erreger der Cerebrospinalmeningitis. *Klein, Biondi, A. Fränkel* und

*Miller* fanden sie auch bei gesunden Individuen in der Mundhöhle und im Nasenrachenraum; sie können so gleichsam in der Zugangspforte zum Respirationssystem vorübergehend existieren. Sie sind mit den Mikroben der Sputumseptikämie identisch. *Emmerich* fand sie auch im Staube eines Zimmers, in dem sich Pneumoniker aufhielten.

Bei einer Temperatur von 24° C. beginnt das Wachsthum gut vor sich zu gehen, und erfolgt am besten bei Bruttemperatur.

Auf der Gelatineplatte bilden sich rundliche Colonien von mässiger Grösse. Längs des Impfstiches zeigen sich kleine, weisse Körnchen und auf der Oberfläche eine schwache, durchscheinende Vorragung. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Agar bildet sich ein dünner, durchsichtiger Ueberzug. Auf Blutserum entsteht ein dünner, durchscheinender, schleimiger Belag. Die Culturen halten sich nicht längere Zeit; bei einer Temperatur von 42° verlieren sie schon nach 1—2 Tagen ihre Virulenz. Die Virulenz geht nach *Fränkel* auch bei der Cultivierung in Milch verloren.

Will man den Kokken die Giftigkeit erhalten, so ist es nothwendig, sie von Zeit zu Zeit auf Thiere überzuimpfen. Die auf künstlichen Nährböden gezüchteten Diplokokken zeigen keine Kapseln. Nach Verlust der Kapseln werden sie regelmässig rund, ordnen sich in Ketten an und wurden deshalb von *Gamaleia* als Streptococcus lanceolatus bezeichnet. Im Blute der mit den Culturen inficierten Thiere zeigen sich die Kapseln.

Die Kokken färben sich in den verdünnten alkoholischen Lösungen der Anilinfarben und lassen sich durch die *Gram*'sche Methode sehr leicht auf dem Präparate gefärbt darstellen. Hierdurch unterscheiden sie sich von dem Pneumobacillus *Friedländer's*. Die Kapsel bleibt bei den gewöhnlichen Färbungsmethoden ungefärbt. Zur Färbung der Kapseln wird nach *Ribbert* eine heissgesättigte Lösung der Kapseln von Dahliaviolett in 100 Theilen Wasser, 50 Theilen Alkohol und $12^1/_2$ Theilen Essigsäure benützt; die Färbung erfolgt in dieser Lösung sehr rasch; man braucht auch nur kurze Zeit in Wasser auszuwaschen. Die Kokken erscheinen dunkelblau, die Kapseln lichtblau.

Zu Uebertragungen von Reinculturen eignen sich am besten die Bouillonculturen, von denen man 1—2 Ccm. zu einer subcutanen Injection verwendet. Man findet im Blute und in den Organen die Kokken mit ihren Kapseln. Entzündungserscheinungen an den Lungen kommen nicht bei subcutanen Injectionen zustande; bei Infectionen der Pleura entstehen Entzündungen der Pleura und an den Lungen. Bringt man die Reinculturen in die Trachea von Kaninchen, so entsteht eine Pneumonie mit allen charakteristischen Symptomen.

## Pneumobacillus Friedlaenderi.

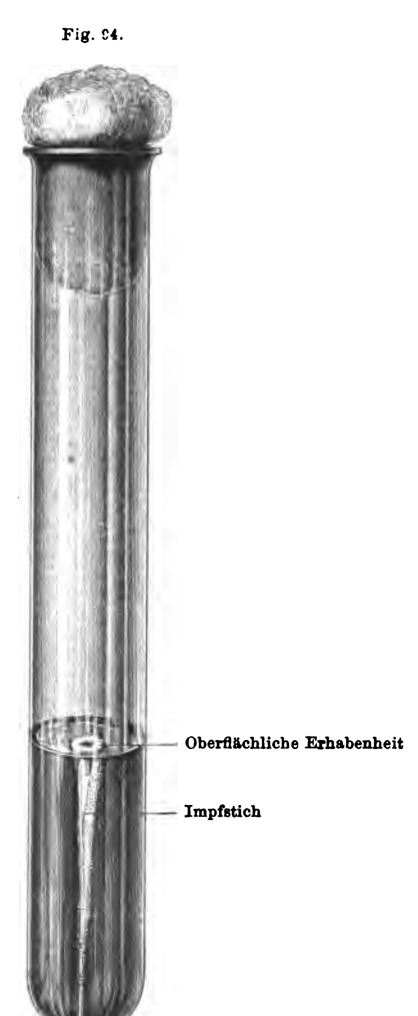
*Friedländer* fand in dem Auswurfe und im Lungengewebe einen Mikroorganismus, dessen Elemente Stäbchen von verschiedener Grösse sind. Sie liegen einzeln oder zu zweien oder in Form von Verbänden neben einander. Sie besitzen eine als durchsichtigen Hof erscheinende Kapsel, die aber bei künstlichen Züchtungen fehlt. Die Bacillen sind unbeweglich. Zum Unterschiede vom Diplococcus

pneumoniae geben die Pneumobacillen bei Anwendung des *Gram*'schen Verfahrens ihren Farbstoff ab.

Die Pneumobacillen gedeihen bei einer niedrigeren Temperatur als der Diplococcus pneumoniae.

Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte zeigen sich rundliche, scharf begrenzte Colonien von körnigem Gefüge. In

Fig. 94.




*Gelatinestichcultur des Pneumobacillus Friedlaenderi (Nagelcultur).*

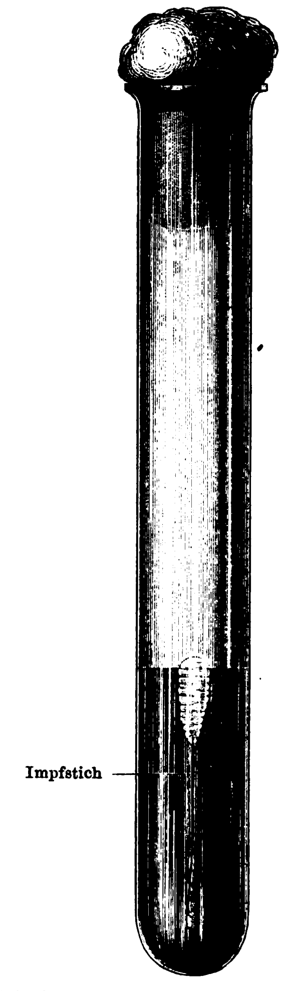
der Stichcultur entsteht auf der Oberfläche eine dicke, porzellanartige Erhabenheit; auch längs des Impfstiches schreitet das Wachsthum rasch fort; es entsteht so das deutliche Bild eines Nagels (Nagelcultur, Fig. 94). Aeltere Culturen werden bräunlich. Auf Agar bildet sich ein dichter Belag; auf Kartoffeln entsteht ein dicker, gelblicher, feuchter Ueberzug. Häufig treten an den Culturen Gas-

blasen auf. Infectionen von Mäusen auf subcutanem Wege führen sehr bald zum Tode; Meerschweinchen sind weniger empfindlich. Subpleurale oder intrapulmonale Injectionen veranlassen eine Pneumonie. Jedoch scheint die croupöse Pneumonie nach *Weichselbaum* und *C. Fränkel* nur in wenigen Fällen (unter 100 Fällen 9mal) durch den Pneumobacillus bedingt zu sein.

### Micrococcus tetragenus.

*Koch* und *Gaffky* fanden in dem Inhalt einer tuberculösen Caverne kleine, unbewegliche Kokken, die regelmässig zu vieren an einander gelagert und von einer Kapsel umschlossen waren. Man findet sie auch im Sputum und nach *Karlinski* sehr häufig in Zahnabscessen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte entstehen weisse, punktförmige Colonien, die auf der Oberfläche der Gelatine porzellanartig glänzen. In der Stichcultur zeigen sich isolierte, scharf begrenzte Colonien längs des Stichcanales, welche scheibenförmig über einander gelagert sind; die oberflächlichste Scheibe springt halbkugelig vor (Fig. 95). Auf Agar und auf Blutserum entwickeln sich abgegrenzte runde Colonien längs des Impfstiches. Auf Kartoffeln entsteht ein schleimiger Ueberzug. Weisse Mäuse gehen nach der Infection innerhalb vier Wochen zugrunde.

Fig. 95.




*Gelatinestichcultur des Micrococcus tetragenus (nach Macé).*

### Bacillus aureus.

Die Elemente des Bacillus aureus sind kurze Stäbchen von geringer Beweglichkeit. Sie wurden von *Adametz* im Wasser und von *Unna* und *Tommasoli* auch bei einigen Eczemen auf der menschlichen Haut angetroffen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte entwickeln sich punktförmige Colonien, welche sich gelb färben und höckerig werden. In der Stichcultur bildet sich auf der Oberfläche ein dunkelgelber Belag. Auf Kartoffeln gedeihen sie in Form glänzender Halbkugeln, die sich vereinigen und eine dunkelgelbe bis braunrothe Farbe annehmen.

### Tuberkelbacillus und Actinomyces.

Im Sputum von Tuberculösen und im Caverneninhalt kommt regelmässig ein Mikroorganismus vor, den *Koch* mit dem Namen

des Tuberkelbacillus belegt. Er wurde bereits bei der bakteriologischen Analyse des Eiters beschrieben (pag. 145); auch der manchmal im Sputum vorkommende Actinomycespilz ist schon an derselben Stelle beschrieben worden (pag. 148).

## Bacillus tussis convulsivae.

*Afanassiew* fand im Sputum von Pertussiskranken einen Mikroorganismus, den er als Bacillus tussis convulsivae beschrieb. Es sind kurze Stäbchen, die lebhaft beweglich sind und sich am besten bei Bruttemperatur züchten lassen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte entstehen rundliche, braune Colonien, in der Stichcultur ein oberflächlicher Ueberzug. Auf Agar entwickelt sich ein dicker grauer, auf Kartoffeln ein dicker brauner Belag.

## Bacillus pneumosepticus.

*Babès* fand in den Respirationsorganen und verschiedenen anderen Geweben eines an septischer Pneumonie verstorbenen Individuums unbewegliche, kurze Stäbchen, die leicht Anilinfarbstoffe aufnehmen, sie aber bei Anwendung des *Gram*'schen Verfahrens abgeben. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte entwickeln sich flache, weisse, ausgebreitete Inseln; in der Stichcultur gedeihen sie längs des ganzen Impfstiches und verbreiten einen unangenehmen fadigen Geruch. Auf Agar zeigen sich undeutliche Colonien, welche zusammenfliessen und einen oberflächlichen Belag bilden. Ein ähnlicher, feuchter, dicker Ueberzug findet sich auch auf Kartoffeln. Impfversuche an Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen führen nach 1—2 Tagen zum Tode. Die Bacillen treten nicht selten auch in den Leukocyten eingeschlossen auf. Die Virulenz geht nach wiederholter Uebertragung auf künstliche Nährböden verloren.

# Bakteriologische Untersuchung des Blutes.

Im allgemeinen ist bei den verschiedenen Mikroorganismen bereits hervorgehoben worden, dass sie sich nicht nur in den einzelnen Organen, sondern auch im Blute vorfinden; es ist daher nöthig, dass Untersuchungen des Blutes sowohl an mikroskopischen Präparaten als auch durch die Züchtungsmethoden vorgenommen werden.

Im Blute finden wir Schimmelpilze, Sprosspilze und Bakterien. Es ist schon früher angeführt worden, dass sich im Blute Staphylokokken, Streptokokken, Tuberkelbacillen (*Weichselbaum*), Typhusbacillen, Anthraxbacillen, Tetanusbacillen, Rotzbacillen etc. nachweisen lassen. Ueberdies sind aber noch andere Mikroorganismen anzuführen, welche vorwiegend im Blute vorkommen.

Wenn man das Blut eines Menschen untersuchen will, so muss man früher die Fingerbeere mit Sublimat, Alkohol und Aether sorgsam reinigen. Hierauf wird durch Einstich das Blut gewonnen; der erste Tropfen wird mittelst einer sterilisierten Platinnadel abgewischt; der zweite Tropfen wird mit einem desinficierten Deckgläschen aufgenommen und mittelst eines zweiten desinficierten Deckgläschens verrieben, getrocknet und auf etwa 120° erwärmt. Die Desinfection der Deckgläschen erfolgt am besten in Sublimat, aus dem sie in Alkohol und in Aether gebracht mit einer desinficierten Pincette herausgehoben und an der Luft rasch getrocknet werden. Die basischen Anilinfarbstoffe, welche gewöhnlich für die bakteriologische Untersuchung angewendet werden, werden in wässerigen Lösungen verwendet; zuweilen wird Alkohol, Glycerin oder Essigsäure den Farblösungen zugesetzt. Man lässt die Farbstoffe durch einige Minuten einwirken, spült mit destilliertem Wasser ab, trocknet das Präparat und setzt Canadabalsam zu. Will man die Präparate nicht länger aufbewahren, so legt man sie in Nelkenöl, Origanumöl oder Cedernöl. Viel verwendet werden zur Färbung die *Löffler*'sche alkalische Methylenblaulösung und die *Gram*'sche Methode mit ihren Modificationen (pag. 54).

Bei der *Günther*'schen Methode werden die getrockneten und fixierten Blutpräparate mit dünner Essigsäurelösung (1 Procent bis 5 Procent) abgespült; dadurch wird das Hämoglobin aus den Blutkörperchen extrahiert und ein grosser Theil des Plasma von dem

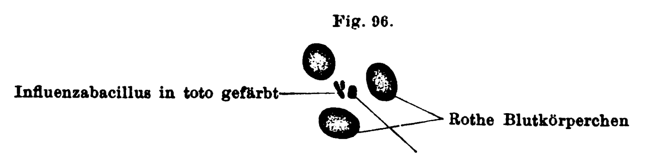
Glase heruntergewaschen, ohne dass die Fixierung der Bakterien darunter leidet. Trocknet man nun die Schnitte wieder, so kann man sie nach den gewöhnlichen Methoden färben und erhält dadurch eine ziemlich isolierte Färbung der Bakterien. Die Blutkörperchen erscheinen nur noch wie blosse Schatten und stören das Bild der gefärbten Bakterien nicht mehr.

Wenn die Blutschichte bereits zu lange am Deckglase angetrocknet ist, so gelingt es nicht, das Plasma mit Essigsäure abzuspülen. *Günther* behandelt nun eingetrocknete Schichten mit 2- bis 3procentiger wässeriger Pepsinlösung. Das Plasma wird in kurzer Zeit peptonisiert, die Bakterien bleiben wohl erhalten.

## Influenzabacillus.

*Babès, Canon, Pfeiffer* und *Kitasato* sehen als Erreger der Influenza winzig kleine Stäbchen an, die sich im Blute von Influenzakranken nachweisen lassen; sie liegen zum Theil in den weissen Blutkörperchen und erscheinen oft zu dreien oder vieren kettenförmig an einander gereiht. Zu ihrem Nachweise legt *Canon* das lufttrockene Deckglaspräparat auf 5 Minuten in Alkohol und färbt durch 3—6 Stunden in der *Chenzynsky*'schen Methylenblaueosin-

Fig. 96.




*Influenzabacillen im Blute des Menschen. (Nach einem Originalpräparate von Canon.)*

lösung, spült in Wasser ab, lässt trocknen und schliesst in Canadabalsam ein. Bei dieser Färbung erscheinen die rothen Blutkörperchen roth, die weissen Blutkörperchen und die Bacillen blau (Fig. 96). Die *Chenzynsky*'sche Methylenblaueosinlösung besteht aus 40·0 einer concentrierten, wässerigen Methylenblaulösung, 20·0 einer halbprocentigen Eosinlösung in 70procentigem Alkohol und 40·0 Wasser.

Auf schräg erstarrtem Glycerinagar entwickeln sich bei Bruttemperatur sehr kleine, fast nur bei Lupenvergrösserung wahrnehmbare, wasserhelle Tröpfchen, die keine Neigung haben, zusammenzufliessen. In Bouillon bilden sich in den ersten 24 Stunden spärliche weisse Wölkchen, welche sich zu Boden senken, so dass die darüber stehende Flüssigkeit klar bleibt.

## Bacillus endocarditis capsulatus.

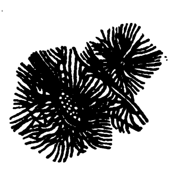
*Weichselbaum* fand im Thrombus des Herzohres eines an Endocarditis Verstorbenen Bacillen, welche von einer Kapsel umschlossen und dem Pneumobacillus ähnlich sind. Die Gelatine wird nicht verflüssigt; die Stichcultur zeigt eine stearinartig glänzende Auflagerung. Auf Agar entwickelt sich ein grauweisser Belag. Die

Bacillen geben bei Anwendung der *Gram*'schen Methode ihren Farbstoff ab. Subcutane Injectionen führen den Tod der Versuchsthiere herbei; bei Verletzung der Aortaklappen entsteht nach der Infection eine Endocarditis.

## Bacillus des Schweinerothlaufs.

Eine der gefährlichsten Krankheiten bei Schweinen ist der Schweinerothlauf, da die Mehrzahl der erkrankten Thiere dieser Infectionskrankheit oft schon nach einigen Stunden zum Opfer fällt. Anfangs treten unter Fiebererscheinungen am Halse, am Bauche und an der Brust rothe Flecke auf, die später eine braune Farbe annehmen. Als Ursache dieser Erkrankung sehen *Pasteur, Thuillier, Löffler, Schottelius* und *Schütz* einen Mikroorganismus an, der sich im Blute und im Gewebssafte verschiedener Organe, besonders in der Milz, vorfindet. Es sind kleine Stäbchen, die eine Eigenbewegung besitzen; sie erscheinen bei der Züchtung als facultativ anaërob. Sie nehmen die Anilinfarbstoffe leicht auf und erweisen sich den Entfärbungsverfahren so auch der *Gram*'schen Methode gegenüber als resistent. Besonders schön erweist sich die *Gram*'sche Methode bei Schnitten. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte bilden sich

Fig. 97.



*Inseln des Bacillus des Schweinerothlaufs auf der Gelatineplatte (nach Ziegler).*

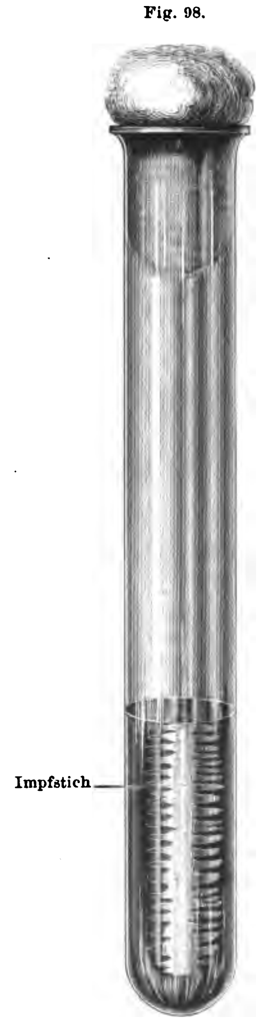
Colonien, die vielfache, strahlige, mit einander anastomosierende Ausläufer besitzen und so Knochenkörperchen ähnlich sind (Fig. 97). Die Stichcultur wächst langsam; die Entwicklung beginnt unterhalb der freien Oberfläche der Gelatine und rückt allmälig in die Tiefe. Vom Stichcanal gehen zahlreiche, verzweigte Fäden aus, welche die Gelatine so reichlich erfüllen, dass sie trübe wird. Auf Agar bildet sich längs des Impfstriches ein zarter Belag. Durch Impfungen unter die Haut oder in die Bauchhöhle kann man Krankheitserscheinungen bei Mäusen, Tauben, Kaninchen, aber nicht bei Meerschweinchen und Hühnern hervorrufen.

## Bacillus murisepticus.

Im faulenden Blute und in anderen faulenden Flüssigkeiten fand *Koch* kleine, unbewegliche Stäbchen, die denen des Schweinerothlaufs ähnlich, aber etwas dünner und schmäler sind. Sie sind unbeweglich. Auf den ersten Anblick ers heinen sie als feine nadelförmige Krystalle, die nur durch die Färbung erkannt werden. Sie bleiben auch bei Anwendung des *Gram*'schen Verfahrens gefärbt.

Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte treten undeutlich begrenzte Colonien auf, die sich in Form weisslicher, zarter Wölkchen über die Platte ausbreiten. In der Stichcultur zeigen sich gleichfalls blaugraue, trübe Wolken, welche die ganze Gelatine durchsetzen (Fig. 98). Auf Agar entwickeln sich längs des Impf-

Fig. 98.



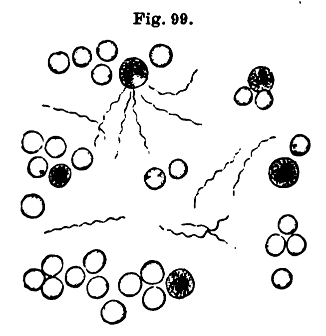

*Gelatinestichcultur des Bacillus murisepticus (nach Macé).*

stiches runde, isolierte, gelbbraune Colonien. Impfungen bei Hausmäusen führen nach 2—3 Tagen den Tod herbei. Feldmäuse und Meerschweinchen sind immun. Die Bacillen finden sich im Blutgefässsystem; die weissen Blutkörperchen erweisen sich oft total zerstört. Das Blut der gestorbenen Thiere erweist sich als sehr virulent.

## Spirochaete Obermeieri.

Zur Zeit des Fieberanfalles bei Febris recurrens fand *Obermeier* Spirillen im Blute; die Spirillen sind etwa sechsmal grösser als die rothen Blutkörperchen und bewegen sich sehr lebhaft (Fig. 99). Sie zeigen sich der Färbung mit den gebräuchlichen basischen Anilinfarbstoffen leicht zugänglich, geben aber bei Anwendung des *Gram*'schen Verfahrens die Farbe wieder ab. Eine fast isolierte Färbung erhält man durch die Anwendung der *Günther*'schen Methode; bei dieser werden die lufttrockenen Deckgläschen vor Einwirkung der Färbeflüssigkeit durch 10 Secunden in 5procentige

Fig. 99.



*Recurrensspirillen (nach Jaksch).*

Essigsäure gelegt, um die Blutzellen zu entfärben. dann wird die Essigsäure durch Abblasen entfernt, und schliesslich wird das Präparat, um es von den letzten Resten anhaftender Säure zu befreien, mit der präparierten Seite über eine eben umgeschüttelte, geöffnete Flasche mit starker Ammoniaklösung gehalten, dann mit Anilinwassergentianaviolett gefärbt, mit Wasser abgespült und in Canadabalsam eingeschlossen. Die künstliche Züchtung ist bisher noch nicht gelungen. Uebertragungen von spirillenhaltigem Blute sollen nur beim Menschen und beim Affen von Erfolg gewesen sein.

## Protozoen im Blute.

Im Blute finden sich bei mehreren Infectionskrankheiten Protozoen. Die Funde von *Lavéran,* dass es sich beim Malariaprocesse um Protozoen handle, sind von *Celli, Golgi, Sanfelice* etc. glänzend bestätigt und erweitert worden und sind heute überall anerkannt. Da sich die Malaria an den Boden knüpft, so haben die Malariaplasmodien bei der bakteriologischen Analyse des Bodens (pag. 120) ihre Beschreibung gefunden.

*Danilewsky* hat ähnliche Formen in den rothen Blutkörperchen von Eidechsen, Schildkröten und Vögeln gefunden, und *Smith* hat nachgewiesen, dass es sich beim Texasfieber des Rindes um ähnliche Vorgänge handle; dasselbe gilt nach *Babès* von der Hémoglobinurie bacterienne du boeuf.

*L. Pfeiffer* fand Protozoen im Blute auch bei der Pocken- und bei der Carcinomerkrankung.

# Sachregister.

## A.



## B.

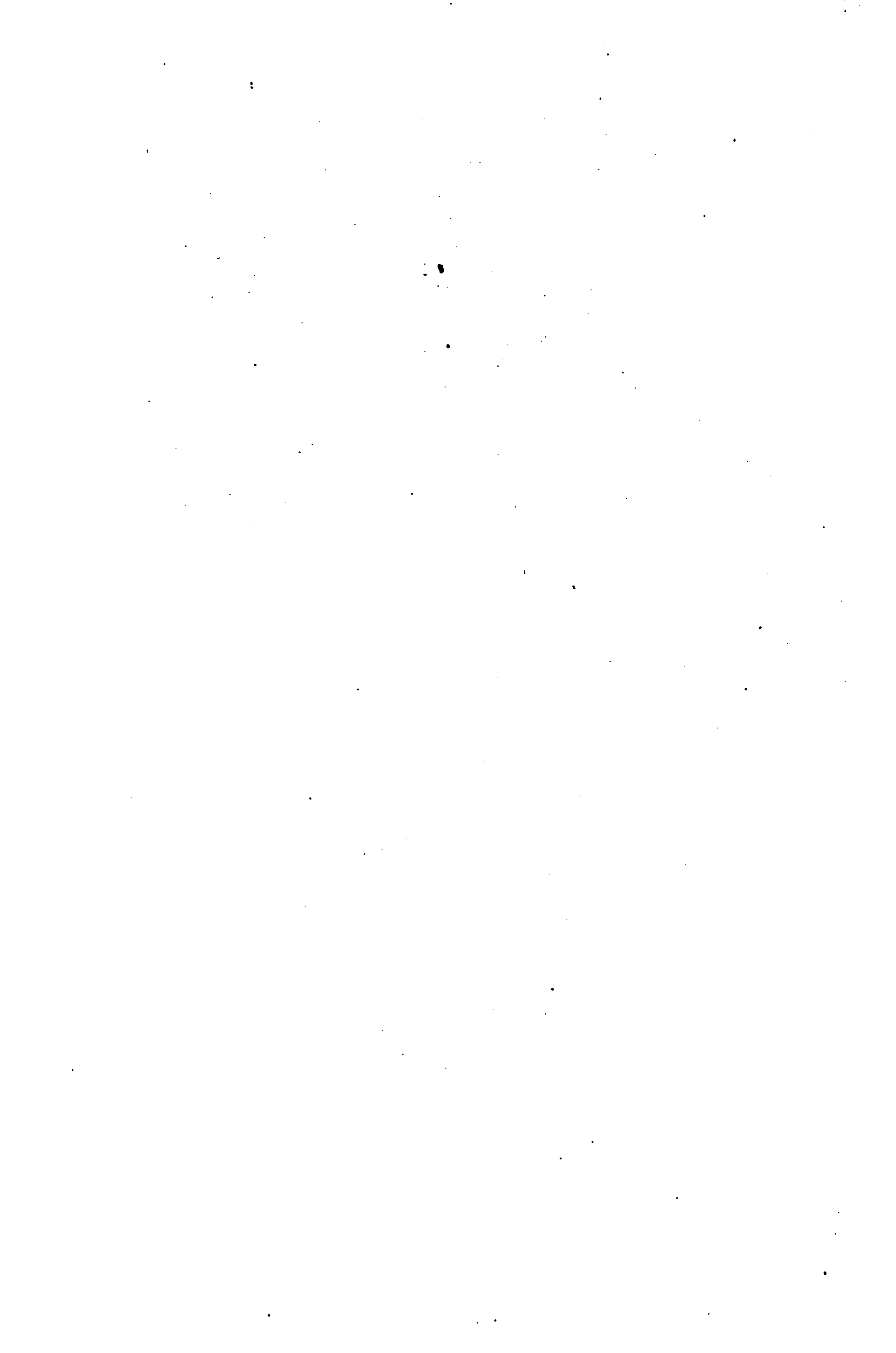


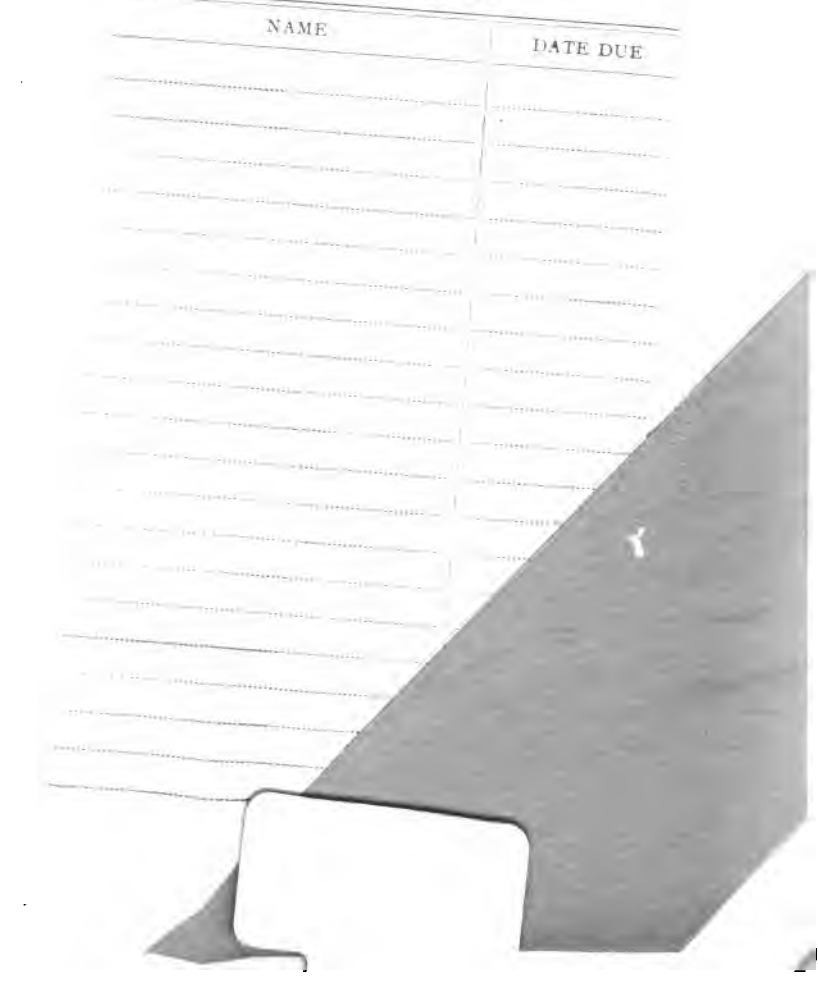
## C.



## D.

Druck von Gottlieb Gistel & Comp. in Wien, I., Augustinerstrasse 12.




NAME
DATE DUE

